

Bilten Krohema

Glasilo Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti KroHem

U ovom broju izdvajamo:

Dijagnostički testovi za SARS-CoV-2

COVID-19: hemostaza i tromboze

Transplantacija krvotvornih matičnih stanica u KBC Split

Smjernice za novodijagnosticiranu AML

Smjernice za PRV

Dopunjene smjernice za sideropeničnu anemiju

Dopunjene smjernice za ITP

Volumen 13., Broj 1.

Krohema

Impresum

Bilten Krohema
Glasilo Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti KroHem
Volumen 13., Broj 1., Svibanj 2021.

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:

Srdana Čulić, Ivan Host, Inga Mandac Smoljanović, Vlatka Periša, Mario Piršić

Tajnica KroHema:

Dijana Perčin

Autori tekstova:

Igor Aurer	Velka Gverić-Krečak	Mirta Mikulić	Pavle Rončević
Antonija Babić	Matea Hodonj	Marija Miloš	Grgur Salai
Renata Babok Flegarić	Hrvoje Holik	Vibor Milunović	Irena Seili-Bekafigo
Drago Batinić	Ivana Horvat	Antonija Miljak	Dubravka Sertić
Ernest Bilić	Marinka Jakić-Bubalo	Zdravko Mitrović	Ranka Serventi-Seiwerth
Viktor Blaslov	Ozren Jakšić	Damir Nemet	Jasminka Sinčić-Petričević
Ana Boban	Matej Jelić	Slobodanka Ostojić Kolonić	Mirna Sučić
Ana Bojanić	Mirjana Mariana Kardum	Steven Živko Pavletić	Mirjana Suver Stević
Desiree Coen Herak	Paro	Vlatko Pejša	Zoran Šiftar
Božena Coha	Ivan Krečak	Zinaida Perić	Marin Šimunić
Dubravka Čaržavec	Lejla Kurić	Vlatka Periša	Katarina Štingl Janković
Sanja Davidović	Marin Kursar	Duška Petranović	Tajana Štoos Veić
Lana Desnica	Rajko Kušec	Sanja Prijijć	Daniel Turudić
Klara Dubravčić	Antonela Lelas	Željko Prka	Toni Valković
Nadira Duraković	Dominik Lozić	Dražen Pulanić	Adriana Vince
Ivana Franić Šimić	Kristijan Lujjić	Margareta Radić Antolic	Josipa Vlasac Glasnović
Davor Galušić	Marko Lucijanić	Delfa Radić-Krišto	Marijo Vodanović
Slavko Gašparov	Inga Mandac Smoljanović	Ivo Radman	Radovan Vrhovac
Koraljka Gjadrov-Kuveždić	Ivana Mareković	Mirela Raos	Renata Zadro
Dragana Grohovac	Martina Marjanović	Sunčica Ries	Viktor Zatezalo
Zorana Grubić	Marko Martinović	Jelena Roganović	Silva Zupančić Šalek

Uputa suradnicima:

Materijali se šalju na adresu uredništva „Bilten Krohema“, Buzinski prilaz 10, 10 010 Zagreb, u elektronskom i tiskanom obliku, te obvezno i na adresu E-pošte urednika dpulanic@yahoo.com

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

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

Sadržaj

Igor Aurer: Uvodnik	3
Ivana Mareković: Primjena i interpretacija dijagnostičkih testova za SARS-CoV-2	4
Marko Lucijanić: Pandemija u pandemiji - asimptomatske duboke venske tromboze u hospitaliziranih COVID-19 bolesnika	7
Dražen Pulanić: COVID-19: hemostaza i tromboze	10
Marin Šimunić, Marinka Jakić-Bubalo: Značajan porast novodijagnosticiranih hematoloških malignih bolesti u KBC Split nakon prvog popuštanja epidemioloških mjera 2020. godine	13
Dominik Lozić: Transplantacija krvotvornih matičnih stanica u KBC Split	16
Inga Mandac Smoljanović, Dejan Strahija, Viktor Zatezalo, Slobodanka Ostojić Kolonić, Delfa Radić-Krišto: Liječenje akutne promijelocitne leukemije u doba COVID-19 pandemije – iskustvo KB Merkur	17
Inga Mandac Smoljanović, Ana Bojanić, Viktor Zatezalo, Slobodanka Ostojić Kolonić, Delfa Radić-Krišto: FLT3-pozitivna akutna mijeloična leukemija: izazovi u svakom koraku liječenja	21
Mirta Mikulić, Nadira Duraković, Margareta Radić Antolic, Alen Ostojić, Klara Dubravčić, Ivana Horvat, Sanja Prijić, Pavle Rončević, Radovan Vrhovac, Dubravka Sertić, Drago Batinić, Zinaida Perić, Željko Prka, Vlatka Periša, Delfa Radić-Krišto, Viktor Blaslov, Dominik Lozić, Dragana Grohovac, Hrvoje Holik, Ranka Serventi-Seiwerth: Smjernice za liječenje bolesnika s novodijagnosticiranom akutnom mijeloičnom leukemijom podobnih za primjenu intenzivne kemoterapije	24
Pavle Rončević, Mirta Mikulić, Željko Prka, Nadira Duraković, Alen Ostojić, Delfa Radić-Krišto, Lana Desnica, Zinaida Perić, Dubravka Čaržavec, Dubravka Sertić, Dominik Lozić, Viktor Blaslov, Božana Cocha, Hrvoje Holik, Ivan Krečak, Dragana Grohovac, Vlatka Periša, Radovan Vrhovac, Ranka Serventi-Seiwerth: Smjernice za liječenje bolesnika s novodijagnosticiranom akutnom mijeloičnom leukemijom koji nisu podobni za liječenje intenzivnim oblicima liječenja	30
Rajko Kušec, Dubravka Čaržavec, Ranka Serventi-Seiwerth, Jasminka Sinčić-Petričević, Davor Galušić, Dragana Grohovac, Marin Kursar, Ivan Krečak, Marko Lucijanić, Marko Martinović, Vlatka Periša, Pavle Rončević: Smjernice za dijagnostiku i liječenje policitemije vere	32
Inga Mandac Smoljanović: Bispecifična protutijela ili kako probuditi vlastite T- stanice ubojice?	36

Ernest Bilić, Kristijan Lujić, Matej Jelić, Daniel Turudić: Granulocitopenije u djece	40
Marijo Vodanović, Ivo Radman, Dražen Pulanić, Inga Mandac Smoljanović, Delfa Radić-Krišto, Duška Petranović, Hrvoje Holik, Ivan Krečak, Renata Babok Flegarić, Martina Marjanović, Jelena Roganović, Toni Valković, Slobodanka Ostojić Kolonić, Vlatko Pejša, Igor Aurer, Rajko Kušec: Nadopuna smjernica za dijagnostiku i liječenje anemije uzrokovane manjkom željeza	46
Dražen Pulanić, Mirela Raos, Grgur Salai, Vlatka Periša, Zdravko Mitrović, Viktor Blaslov, Ivan Krečak, Hrvoje Holik, Velka Gverić-Krečak, Josipa Vlasac Glasnović, Antonija Miljak, Ana Boban, Marijo Vodanović, Igor Aurer: Karakteristike novooboljelih bolesnika s autoimunom hemolitičkom anemijom: prospektivna opservacijska multicentrična studija KroHema	50
Dražen Pulanić, Silva Zupančić Šalek, Ana Boban, Slobodanka Ostojić Kolonić, Davor Galušić, Toni Valković: Nadopuna smjernica za dijagnostiku i liječenje imunosne trombocitopenije u odraslih	52
Dražen Pulanić, Desiree Coen Herak, Marija Miloš: Trombotična trombocitopenična purpura – novosti u dijagnostičkim mogućnostima	55
Antonija Babić, Drago Batinić, Sanja Davidović, Klara Dubravčić, Ivana Franić Šimić, Koraljka Gjadrov-Kuveždić, Zorana Grubić, Ivana Horvat, Mirjana Mariana Kardum Paro, Lejla Kurić, Rajko Kušec, Margareta Radić Antolic, Sunčica Ries, Irena Seili-Bekafigo, Mirna Sučić, Mirjana Suver Stević, Zoran Šiftar, Katarina Štingl Janković, Tajana Štoos Veić, Renata Zadro: Upute korisnicima laboratorijskih usluga vezano za pretrage koje se izvode u dijagnostičkim laboratorijima iz područja citologije, imunofenotipizacije, citogenetike, molekularne dijagnostike i tipizacije tkiva	57
Margareta Radić Antolic: Mutacijski status IGHV u bolesnika s KLL-om	62
Dražen Pulanić, Lana Desnica, Antonela Lelas, Matea Hodonj, Zinaida Perić, Nadira Duraković, Ranka Serventi-Seiwerth, Radovan Vrhovac, Steven Živko Pavletić: 5. Međunarodni simpozij o kroničnom GvHD-u u Zagrebu i druge aktivnosti Multidisciplinarnog tima	64
Damir Nemet: Aktivnosti Zaklade KroHema u 2020. – izvrsnost, edukacija, znanost	66
Slavko Gašparov: In memoriam Gorana Aralica	68
Adriana Vince: In memoriam Davorka Dušek	69

Uvodnik

Drage kolegice i kolege, članice i članovi KroHema!

Nakon godinu dana ponovno pišem uvodnik za naš Bilten i čitam što sam bio tada napisao. U međuvremenu se svašta dogodilo, nešto se promijenilo, a nešto je ostalo isto.

I dalje su neki od nas povremeno hematolozi, a povremeno infektolozi ili intenzivisti. Elektronska komunikacija je postala dio svakodnevice, a pojedini odjeli i dalje moraju dio svojih prostora prepustiti radi zbrinjavanja velikog broja zaraženih bolesnika.

Nešto se i promijenilo. Velik broj nas je prebolio COVID-19, a skoro svi smo se cijepili. Naši bolesnici su prošli puno gore. Manje-više svi hematološki odjeli su doživjeli proboj COVID-19 infekcije i širenje među hospitaliziranim bolesnicima. Kao i u drugim zemljama, tako je i kod nas smrtnost inficiranih bolesnika s aktivnim zloćudnim hematološkim bolestima bila oko jedne trećine. Naučili smo da značajan broj naših bolesnika, pogotovo oni liječeni protu-CD-20 monoklonskim protutijelima, ima protražiran tijek infekcije s neizvjesnim ishodom. Ponovno smo bili u vrhu hrvatske medicine, među prvima prepoznajući takav tijek bolesti i pokušavajući pomoći našim bolesnicima lijekovima koji su nam bili na raspolaganju. Rezultate toga ćemo imati prilike čuti na proljetnom sastanku KroHema u subotu 8.5.

I ponovno smo, usprkos svim teškoćama, poboljšali liječenje naših bolesnika. Kolege iz Splita su počeli s programom transplantacije autolognih matičnih krvotvornih stanica na čemu im, a posebno

njihovom voditelju, dr. Dominiku Loziću, od svega srca čestitamo!

Nedavno smo bili suočeni s još jednom, za naše bolesnike vrlo opasnom, prijetnjom: obustavom opskrbe bolnica lijekovima. Na sreću, izgleda da su se vlast i veledrogerije dogovorili i da je taj problem za sada riješen. To pokazuje koliko je važno da istupamo u javnosti i podižemo svijest o problemima naših bolesnika i važnosti suvremenih lijekova i terapijskih metoda za njihovo preživljavanje. No mislim da moramo biti svjesni činjenice da izdvajanja za zdravstvo u Hrvatskoj nisu dostatna za održavanje medicine, pa tako i hematologije, na razini na kojoj je sada i da možemo očekivati da će se ovakve krize događati i ubuduće.

U usporedbi sa stanjem otprije godinu dana, čak su i vlasti shvatile da život ne može stati ni u pandemiji pa je ukinut smjenski rad jer druge bolesti nisu nestale, a specijalizacije i nastava su se barem dijelom vratile tamo gdje trebaju biti - u zdravstvenim ustanovama. Kako se čini dok pišem ovaj uvodnik, nama su dopustili da ovogodišnji proljetni sastanak barem dijelom održimo uživo, s po ne više od 25 sudionika u dvorani. Nastojat ćemo iskoristiti tu priliku da se ponovno vidimo i uživo porazgovaramo i družimo, izmijenimo novostečena iskustva i stavove o pojedinim problemima jer, na kraju krajeva, ne smijemo zaboraviti ono što već dugo znamo: nije važno samo preživljavanje, već i kvaliteta života!

Vaš predsjednik
Prof. dr. Igor Aurer

Primjena i interpretacija dijagnostičkih testova za SARS-CoV-2

Ivana Mareković

Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju
Klinički bolnički centar Zagreb

Dijagnostički testovi za SARS-CoV-2 su jedan od ključnih čimbenika u nastojanjima da se suzbije širenje ovoga virusa od kada je Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) 11. ožujka 2020. godine proglasila globalnu pandemiju bolesti COVID-19. Njihova pouzdanost, pravilna primjena i interpretacija temelj su za rano prepoznavanje pozitivnih osoba, njihovu izolaciju i liječenje te otkrivanje bliskih kontakata u svrhu prevencije širenja infekcije.

Molekularni testovi

Molekularni testovi za otkrivanje SARS-CoV-2 razvijeni su i počeli su se primjenjivati vrlo rano u tijeku epidemije. Razlog tomu je činjenica da su kineski istraživači objavili sekvencu genoma ovog virusa već u siječnju 2020. godine, dakle niti mjesec dana od pojave prvih slučajeva u kineskom gradu Wuhanu. Nakon što je otkrivena sekvenca virusnog genoma, prvi postupak za otkrivanje novog virusa u dijagnostičke svrhe temeljen na PCR metodi (prema engl. *polymerase chain reaction*, lančana reakcija polimeraze) razvijen je u sveučilišnoj klinici Charité u Berlinu. Ovo je protokol koji je prvi objavljen i od SZO te su ga počeli primjenjivati laboratoriji širom svijeta a temelji se na otkrivanju E gena (gen koji kodira virusnu ovojnica) kao prvog te u slučaju pozitivnog rezultata potvrdu otkrivanjem RdRP gena (gena koji kodira polimerazu važnu za replikaciju virusa). Nakon toga SZO objavila je i protokole razvijene od drugih referalnih laboratorija u svijetu.

Danas postoji oko 200 različitih molekularnih testova temeljenih na PCR metodi za otkrivanje SARS-CoV-2 koji ovisno o proizvođaču otkrivaju različite ciljne gene virusa. Najčešći ciljni geni su E gen ovojnice, N gen nukleokapside, S gen šiljka odnosno površinskog nastavka, rdRP gen RNK ovisne RNK polimeraze i ORF1 gen. Osjetljivost različitih testova na pojedine gene je usporediva. U molekularnoj dijagnostici koristi se lančana reakcija polimeraze nakon obrnutog prepisivanja odnosno RT-PCR (prema engl. *reverse transcription - polymerase chain reaction*). Ona je trenutno zlatni standard i najpouzdanija metoda u dijagnostici COVID-19. S obzirom na to da je SARS-CoV-2 RNK

virus, u RT-PCR metodi se RNK pomoću reverzne transkriptaze prvo pretvara u komplementarnu DNA koja onda služi kao uzorak za amplifikaciju tijekom PCR postupka. Vrijeme do dobivanja rezultata kod metoda koje imaju odvojenu ekstrakciju od amplifikacije i detekcije iznosi 3-6 sati ovisno o broju uzoraka te raspoloživim kapacitetima u pogledu uređaja i zdravstvenih djelatnika. Danas su dostupni i molekularni testovi u kojima se ekstrakcija, amplifikacija i detekcija odvijaju istovremeno te su rezultati dostupni od 20 minuta do sat vremena ali su ovi testovi skuplji.

Iako je prisutnost SARS-CoV-2 otkrivena u različitim tjelesnim tekućinama i organskim sustavima, ipak se virusna RNK najčešće otkriva u uzorcima iz respiratornog sustava te su to uzorci izbora za dijagnostiku. Virusna RNK se može detektirati u gornjem respiratornom sustavu 1-3 dana prije početka simptoma. Prisutnost virusne RNK u uzorcima donjeg respiratornog sustava raste tijekom drugog tjedna bolesti te se ovdje može zadržati duže nego li u uzorcima uzetima iz nazofarinksa. Kod nekih osoba virusna RNK se može detektirati u uzorcima stolice i briseva rektuma a u nekim istraživanjima prisutnost u ovim uzorcima je trajala duže u usporedbi s uzorcima iz respiratornog sustava. Virusna RNK dokazana je i u uzorcima krvi, urina, cerebrospinalnog likvora i moždanog tkiva, sjemenoj tekućini i tekućini uzetoj iz oka kod bolesnika s konjunktivitisom.

Osjetljivost molekularnih testova u dijagnostici COVID-19 u kliničkoj praksi procjenjuje se na 70-80%. U istraživanjima je stopa pozitiviteta kod COVID-19 pozitivnih bolesnika bila najviša u uzorcima bronhoalveolarnog lavata (93%) a potom u uzorcima sputuma (72%), brisa nazofarinksa (63%) i brisa ždrijela (32%). Brojni su razlozi zbog kojih rezultat može biti lažno negativan – npr. nepravilno uzet bris nazofarinksa, vrijeme kada je uzorak uzet s obzirom na tijek bolesti jer je osjetljivost manja na početku i na kraju infekcije. U slučaju prisutnosti karakterističnih simptoma i negativnog rezultata RT-PCR testa, preporučuje se test ponoviti.

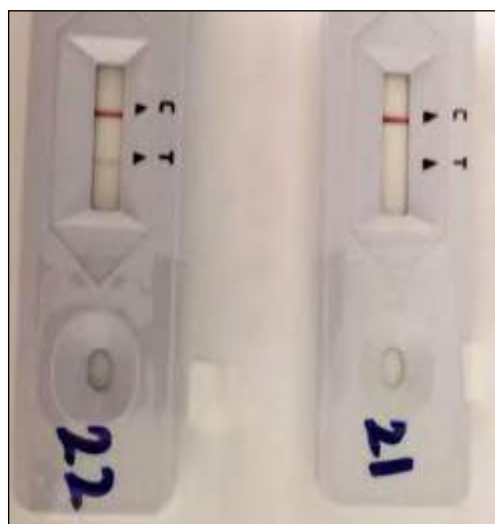
Kod nekih bolesnika virusna RNK prisutna je svega nekoliko dana dok se kod nekih može dokazati i nakon nekoliko tjedana i mjeseci. Važno je napomenuti da pozitivni PCR samo odražava prisutnost virusne RNK u uzorku i ne ukazuje nužno na prisutnost vijabilnog virusa. Kod imunokompromitiranih bolesnika izlučivanje virusa može trajati duže nego kod ostalih bolesnika. Prilikom procjene infektivnosti bolesnika s pozitivnim RT-PCR nalazom uz kliničke kriterije kao dodatna pomoć može poslužiti Ct (prema engl. *cycle threshold*) vrijednost odnosno broj replikacijskih ciklusa potrebnih za nastanak fluorescentnog signala tijekom RT-PCR postupka. Važno je napomenuti da se ovdje se ne radi o standardiziranom kvantitativnom nalazu i broju kopija prisutnog virusa već o indirektnom pokazatelju na temelju kojeg možemo samo zaključiti da što je Ct vrijednost manja, veća je količina prisutne RNK. Važno je naglasiti da nema točno određene Ct vrijednosti koja bi predstavljala granicu pri kojoj bolesnik više nije infektivan. Neka istraživanja pokazuju da se kod Ct vrijednosti >34 u većini slučajeva iz uzorka nije uspjelo kultivirati virus. Ct vrijednosti se nikad ne smiju promatrati zasebno već uvijek u kontekstu kliničke slike.

Evolucijom virusa tijekom pandemije mutacijama nastaju nove varijante virusa koje mogu imati drugačije karakteristike npr. prenosivost virusa, težinu kliničke slike itd. Nove varijante virusa zbog mutacija mogu utjecati i na osjetljivost RT-PCR testova jer početnice/probe neće prepoznati ciljni segment prema kojem su usmjerene što može imati za posljedicu lažno-negativni rezultat. Važno je napomenuti da neće svaka mutacija utjecati na vezivanje početnica/proba i time na osjetljivost testa odnosno testovi koji se temelju na otkrivanju više genskih sekvenci manje su osjetljivi na mutacije od onih koji otkrivaju samo jednu sekvencu. Zbog pojave novih varijanti virusa važno je neprestano pratiti performanse komercijalnih testova što se radi pomoću *in silico* modela te genskim sekvenciranjem.

Brzi antigenski testovi

Brzi antigenski testovi bitno doprinose dijagnostičkim kapacitetima za COVID-19 jer imaju prednost s obzirom na kraće vrijeme do dobivanja rezultata koje iznosi od 15 do 30 minuta uz nižu cijenu te su tehnički daleko manje zahtjevni. Osjetljivost brzih antigenskih testova manja je u usporedbi s RT-PCR metodom a specifičnost im je uglavnom visoka. Njihova upotreba preporučuje se prvenstveno

kod osoba sa simptomima koji su se pojavili unutar pet dana s napomenom da se negativni rezultat mora potvrditi RT-PCR metodom. Prema preporuci SZO preporučuje se koristiti brze antigenske testove koji prema deklaraciji proizvođača imaju osjetljivost $\geq 80\%$ i specifičnost $\geq 97\%$. Također se preporučuje upotreba samo prethodno validiranih testova. Najvažnija uloga brzih antigenskih testova je brzo otkrivanje simptomatskih osoba koje izlučuju velike količine virusa (Ct vrijednosti <25) te njihova brza izolacija i identificiranje kontakata u svrhu sprečavanja daljnjeg širenja.



Slika 1. Brzi antigenski test. Linija C označava kontrolnu liniju koja mora biti uvijek prisutna, znači da je test validan i da se rezultat može očitati. Lijevo – pozitivan rezultat s vidljivom kontrolnom i testnom linijom, desno – negativni rezultat s vidljivom samo kontrolnom linijom.

Serološki testovi

Serološke testove trenutno treba koristiti vrlo oprezno budući imunološki odgovor kod SARS-CoV-2 nije u potpunosti razjašnjen. Protutijela se pojavljuju od prvog do trećeg tjedna bolesti i kod bolesnika s težom kliničkom slikom serološki odgovor je obično izraženiji i brži u usporedbi s asimptomatskim osobama i osobama s blažom kliničkom slikom. IgM i IgG protutijela pojavljuju se gotovo istovremeno a u različitim trenutno dostupnim serološkim testovima (ELISA, CLIA) najčešće se otkrivaju protutijela usmjerena na antigene površinskog nastavka S (*spike*) i antigena nukleokapside (N). Neki testovi omogućuju i određivanje IgA protutijela ali njihova uloga u imunološkom odgovoru još je nerazjašnjena. Prilikom odabira testa koji će se izvoditi u nekom laboratoriju još nije jasno kojoj klasi protutijela – IgM, IgG i/ili IgA treba dati pred-

nost odnosno koju klasu protutijela test treba obvezno detektirati. U serološkim testovima problem predstavljaju lažno–pozitivni rezultati zbog križne reaktivnosti koja je moguća npr. kod bolesnika s autoimunskim bolestima. Primjena seroloških metoda u druge svrhe osim utvrđivanja seroprevalencije u određenoj populaciji još nije točno definirana. Nije poznato koliko se dugo protutijela zadržavaju nakon preboljele infekcije. Prisutnost protutijela ne znači da se radi o neutralizirajućim protutijelima odnosno da ona pružaju zaštitu od infekcije.

Literatura

1. World Health Organization. Diagnostic testing for SARS-CoV-2. Interim guidance. September 11 2020.
2. Etievant E, Bal A, Escuret V, Brengel-Pesce K, M Bouscambert, V Cheynet i sur. Performance Assessment of SARS-CoV-2 PCR Assays Developed by WHO Referral Laboratories. *J Clin Med* 2020;9:1871. doi:10.3390/jcm9061871
3. Kipkorir V, Cheruiyot I, Ngure B, Misiani M, Munguti J. Prolonged SARS-Cov-2 RNA Detection in Anal/ Rectal Swabs and Stool Specimens in COVID-19 Patients After Negative
4. Conversion in Nasopharyngeal RT-PCR Test. *J Med Virol* 2020; 10.1002/jmv.26007.
5. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020;323(22):2249-2251.
6. Kriteriji za testiranje na SARS-CoV-2, prekid izolacije i karantene. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2. studeni 2020, verzija 5.
7. Stites EC, Wilen CB. The Interpretation of SARS-CoV-2 Diagnostic Tests. *Med* 2020;78–89.
8. Tom MR, Mina MJ. To Interpret the SARS-CoV-2 Test, Consider the Cycle Threshold Value. *Clin Infect Dis* 2020;71:2252-2254.
9. Niu A, Ning B, Socola F, Safah H, Reynolds T, Ibrahim M i sur. COVID-19 in Patients with Hematological Malignancies: High False Negative Rate with High Mortality. 62nd American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting and Exposition, December 5-8, 2020. Abstract 313
10. Options for the use of rapid antigen tests for COVID-19 in the EU/EEA and the UK (Technical Report). European Center for Disease Prevention and Control. 19 November 2020
11. Upotreba brzih antigenskih testova. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Referentni centar Ministarstva zdravstva za epidemiologiju, 25. studeni 2020.
12. Webinar Vrhunski hrvatski stručnjaci o cijepljenju protiv COVID-19. 27. siječnja 2020

Pandemija u pandemiji - asimptomatske duboke venske tromboze u hospitaliziranih COVID-19 bolesnika

Marko Lucijanić

Zavod za hematologiju

Klinika za unutarnje bolesti KB Dubrava

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Čak 15-20% bolesnika s COVID-19 bolesti se prezentira teškom ili kritičnom kliničkom slikom i zahtijeva hospitalizaciju (1). Rastući broj dokaza ukazuje kako je riječ o trombogenoj bolesti i kako je tromboprofilaksa neophodna u hospitaliziranih COVID-19 bolesnika kako bi se poboljšali ishodi liječenja. Unatoč farmakološkoj tromboprofilaksi heparinom niske molekularne mase (LMWH) koja je postala standard u liječenju hospitaliziranih COVID-19 bolesnika, u literaturi su prijavljene visoke stope kako venskih tako i arterijskih trombotskih događaja. Zanimljivo je kako su studije koje su retrospektivno opisivale incidenciju venskih tromboembolijskih događaja (VTE) redovito prijavljivale znate stope trombotskih događaja (2), no studije koje su sistematski dijagnostički evaluirale bolesnike opisivale su gotovo nevjerojatnu, vrlo visoku pojavnost trombotskih događaja (3-7). Tako je jedna od do sada najvećih retrospektivnih studija na preko 3000 bolesnika prijavila incidenciju plućne embolije (PE) od 3,2% i duboke venske tromboze (DVT) od 3,9% u ukupnoj kohorti bolesnika, 6,2% i 9,4% u intenzivno liječenih bolesnika i 2,2% i 2,0% u ne-intenzivno liječenih bolesnika (2). Međutim, u studijama gdje je rađen probir DVT-a pomoću Color Doppler ultrazvuka (UZV) obje noge među bolesnicima prilikom prijema u jedinice intenzivnog liječenja prijavljene su stope asimptomatskih DVT-a od 65% i 69% (3, 4) dok su među bolesnicima hospitaliziranim na odjelima prijavljene stope asimptomatskih DVT-a od 11,9%-22,5% (5-7).

Oboljeli od COVID-19 i s teškom kliničkom slikom otežano su pokretni iz objektivnih medicinskih razloga (onemoćalost uslijed akutne upalne bolesti, hipoksija, dehidracija i hipotenzija, sedacija, jatrogeni učinak kortikosteroida...), ali i zbog nametnutih restrikcija (mjere izolacije, fizička nemogućnost udaljavanja od izvora kisika...). SARS-CoV-2 virus zloupotrebljava i ostale elemente Virchowljeve trijade te može direktno invadirati endotel krvnih žila i povisiti razinu prokoagulantnih reaktanata u krvi što dijelom objašnjava visoku trombogenost bolesti.

S obzirom na literaturne navode o velikoj uče-

stalosti VTE, osobnim iskustvima iz rada s hospitaliziranim bolesnicima gdje se susreću nagle smrti bolesnika koji su preživjeli mehaničku ventilaciju i vratili se u oporavku na odjele, kao i iskustvima iz post-COVID ambulanti, odlučili smo u KB Dubrava provesti prospektivnu studiju gdje smo asimptomatskim prolongirano hospitaliziranim bolesnicima bez kliničke sumnje na DVT krenuli provoditi probir UZV-a obje noge. Ciljni bolesnici su bili oni hospitalizirani na odjelima ≥ 7 dana. Bolesnici s kliničkom slikom DVT-a isključeni su iz ove studije.

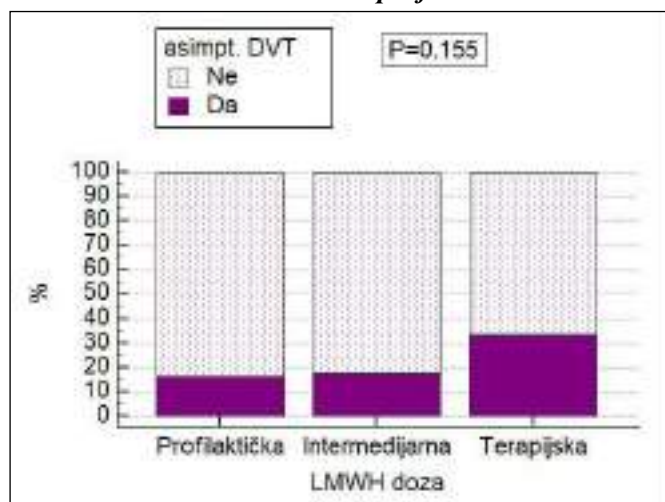
Ovdje kratko prikazujem rezultate dobivene tijekom siječnja 2021. godine gdje je ukupno 102 osobe učinilo pretragu. Svi bolesnici su primali tromboprofilaksu s LMWH, većina u punim terapijskim ili intermedijarnim dozama. Svi bolesnici s pneumonijom ovisnom o kisiku primali su deksametazon.

Medijan dobi bio je 71,5 godina, bilo je ukupno 52,9% muškaraca i 47,1% žena. Medijan vremena od početka simptoma bolesti bio je 27 dana, a medijan vremena od prijema u bolnicu bio je 18 dana. Od 102 prolongirano hospitaliziranih COVID-19 bolesnika, 26 je imalo DVT bez kliničke slike bolesti (25,5%). Većina bolesnika imala je izoliranu distalnu DVT (22 bolesnika, 84,6% bolesnika s DVT i 21,6% ukupne kohorte). Troje je imalo poplitealnu DVT, a jedan je bolesnik imao natkoljenu DVT. Navedenih četvero bolesnika s proksimalnom DVT činilo je 16% bolesnika s DVT i 3,9% ukupne kohorte. Plućna embolija bila je evaluirana u 70 bolesnika i 17/70 (24,3%) imalo je PE, bez značajne razlike u distribuciji među bolesnicima s i bez asimptomatske DVT.

Bolesnici povratnici iz jedinica intenzivnog liječenja imali su DVT u 6/10 (60%) slučajeva, bolesnici na terapiji visokim protocima kisika (eng. high flow oxygen therapy) u 7/33 (21,2%) i prolongirano hospitalizirani bolesnici u 13/59 (22%) slučajeva, $p=0,031$. Glede kliničkih karakteristika bolesnika, statistički značajna razlika bila je prisutna samo u tjelesnoj temperaturi prilikom prijema u bolnicu (38,7 vs 37,7 °C u bolesnika s i bez DVT; $p=0,001$), poznatoj trombofiliji (11,5% vs 0% u bolesnika s i bez DVT; $p=0,015$), i u modificiranom IMPROVE

skoru (medijan 3 vs 2 boda u bolesnika s i bez DVT-a, $p=0,021$). D-dimeri tijekom prijema u bolnicu i posljednji dostupni kontrolni D-dimeri (medijan 6 dana od pretrage) nisu bili značajno povezani s pojavom asimptomatske DVT. Analizom ROC krivulje pronađena je granična vrijednost kontrolnih D-dimera od $>1,5$ mg/L FEU koja je ipak mogla razlučiti dvije skupine bolesnika sa statistički različitim učestalosti DVT (DVT u 46,4% bolesnika s višim i 18,5% s nižim D-dimerima). Zanimljivo je kako težina kliničke slike i sistemske upale mjerena kroz kliničke skorove, upalni parametri poput CRP-a i feritina, elementi crvene i diferencijalne krvne slike kao i kronični metabolički komorbiditeti nisu bili značajno povezani s učestalosti DVT-a u našoj kohorti bolesnika. Također intenzitet tromboprolifakse (terapijske vs intermedijarne vs profilaktičke doze LMWH; Slika 1) nije bio značajno povezan s pojavnosti DVT-a uz napomenu kako je učestalost DVT-a čak bila nešto češća u bolesnika liječenih terapijskim dozama LMWH, vjerojatno kao odraz toga da su u ovoj skupini zastupljeni bolesnici liječeni u jedinicama intenzivnog liječenja.

Slika 1. Učestalost asimptomatske DVT u bolesnika s različitim intenzitetom tromboprolifakse s LMWH.



Čini se kako je DVT bez pune kliničke prezentacije karakteristika suvremeno hospitalno liječenih COVID-19 bolesnika koja se javlja unatoč tome što gotovo svi bolesnici dobivaju farmakološku tromboprolifaksu. Točan uzrok ovoj pojavi ne znamo, ali je ona potvrđena u više nezavisnih kohorti bolesnika i čini se predstavlja kliničku realnost. Uzorci neprepoznavanja ovog stanja vjerojatno su dijelom i jatrogeni s obzirom na to da su bolesnici izloženi barem profilaktičkim, a često i punim terapijskim dozama LMWH koje čini se ne mogu prevenirati pojavu DVT. Također bolesnici primaju kortiko-

steroidne koji također smanjuju razinu upalnog odgovora i vjerojatno dodatno maskiraju kliničku sliku. Većina trombotskih incidenata bila je distalna, s malim rizicima progresije i embolizacije ukoliko se adekvatno liječe. Budući da su bolesnici tijekom boravka terapijski pokriveni s LMWH, punu značajnost ovi događaji vjerojatno poprimaju po otpustu iz bolnice kad bolesnici prestaju primati antikoagulantnu terapiju ili je primaju u vremenski skraćenom periodu u niskim dozama kako preporučaju neke od smjernica za selekcionirane bolesnike. U oba slučaja ako se VTE ne dokaže bolesnik neće primati barem tri mjeseca antikoagulantne terapije u punim dozama kao što bi trebao, osim ako nema alternativnu indikaciju za istu (fibrilacija atrijska, dugotrajna antikoagulantna terapija od ranije...). Iskustva iz post-COVID ambulanti govore za neočekivano čestu pojavu tromboembolijskih incidenata, kao i komplikacija pripisivih istima.

Trenutne smjernice ne preporučaju niti za niti protiv rutinskog probira bilateralnim UZV vena nogu. Iako smo prepoznali pojedine kliničke parametre (temperatura pri dolasku, kontrolni D-dimeri) i skorove (modificirani IMPROVE) koji se značajno razlikuju između bolesnika s i bez DVT-a, znatan udio bolesnika ipak ostaje neprepoznat ako bi se vodili tim kriterijima. Kako nema jasnih kliničkih prediktora s visokom osjetljivošću i specifičnošću koji bi nam pomogli u prepoznavanju ovih bolesnika, o preporuci za rutinskim probirom UZV vena nogu u prolongirano hospitaliziranih bolesnika s COVID-19 bi se vjerojatno trebalo ponovno razmisliti.

Literatura:

1. Wu Z, McGoogan JM (2020) Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 323 (13):1239-1242. doi:10.1001/jama.2020.2648
2. Bilaloglu S, Aphinyanaphongs Y, Jones S, Iturrate E, Hochman J, Berger JS (2020) Thrombosis in Hospitalized Patients With COVID-19 in a New York City Health System. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 324 (8):799-801. doi:10.1001/jama.2020.13372
3. Nahum J, Morichau-Beauchant T, Daviaud F, Echegut P, Fichet J, Maillet JM, Thierry S (2020) Venous Thrombosis Among Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA network open* 3 (5):e2010478. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.10478
4. Llitjos JF, Leclerc M, Chochois C, Monsallier JM, Ramakers M, Auvray M, Merouani K (2020) High incidence of venous thromboembolic events in anticoagulated severe COVID-19 patients. *J Thromb Haemost* 18 (7):1743-1746. doi:10.1111/jth.14869

5. Santoliquido A, Porfidia A, Nesci A, De Matteis G, Marrone G, Porceddu E, Cammà G, Giarretta I, Fantoni M, Landi F, Gasbarrini A, Pola R, D'Alfonso ME, Lo Monaco MR (2020) Incidence of deep vein thrombosis among non-ICU patients hospitalized for COVID-19 despite pharmacological thromboprophylaxis. *J Thromb Haemost* 18 (9):2358-2363. doi:10.1111/jth.14992
6. Artifoni M, Danic G, Gautier G, Gicquel P, Boutoille D, Raffi F, Néel A, Lecomte R (2020) Systematic assessment of venous thromboembolism in COVID-19 patients receiving thromboprophylaxis: incidence and role of D-dimer as predictive factors. *Journal of thrombosis and thrombolysis* 50 (1):211-216. doi:10.1007/s11239-020-02146-z
7. Demelo-Rodríguez P, Cervilla-Muñoz E, Ordieres-Ortega L, Parra-Virto A, Toledano-Macías M, Toledo-Samaniego N, García-García A, García-Fernández-Bravo I, Ji Z, de-Miguel-Diez J, Álvarez-Sala-Walther LA, Del-Toro-Cervera J, Galeano-Valle F (2020) Incidence of asymptomatic deep vein thrombosis in patients with COVID-19 pneumonia and elevated D-dimer levels. *Thrombosis research* 192:23-26. doi:10.1016/j.thromres.2020.05.018

COVID-19: hemostaza i tromboze

Dražen Pulanić

Odjel za hemostazu i trombozu te benigne bolesti krvotvornog sustava

Zavod za hematologiju

Klinika za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i KBC-a Zagreb

Pandemija koronavirusne bolesti 2019. (engl. *Coronavirus Disease 2019*, COVID-19) i dalje ne jenjava, a tromboze i hemostatski poremećaji koji nastanu u značajnog broja COVID-19 bolesnika predmet su golemog medicinskog interesa.

Venske tromboembolije (VTE) uočene su kao važne komplikacije bolesnika hospitaliziranih zbog COVID-19 unatoč medikamentnoj tromboprofilaksi, o čemu u ovom broju *Biltena Krohema* piše i kolega dr. Lucijanić. Također, opisane su i arterijske tromboze kao komplikacije COVID-19 bolesnika, uključujući ishemijske moždane udare. U ovom tekstu osvrnut ću se na postojeća znanja o hiperkoagulabilnosti COVID-19 bolesnika, postojećim smjernicama za tromboprofilaksu, te recentnim saznanjima o trombotskim i drugim hemostatskim poremećajima povezanim s cjepivima protiv COVID-19.

Hiperkoagulabilnost u COVID-19

Bolesnici s COVID-19 imaju često prisutna sva tri elementa Virchowljeva trijasa za nastanak tromboze: otežanu pokretljivost ili nepokretljivost, akutna upalna zbivanja koja dovode do hiperkoagulabilne krvi, te oštećenje endotela krvnih žila. Opisane su povišene aktivnosti faktora VIII, von Willebrandovog faktora, fibrinogena i D-dimera kao pokazatelja hiperkoagulabilnosti u COVID-19 bolesnika. Hospitalizirani COVID-19 bolesnici koji imaju teži oblik bolesti, pogotovo uz dodatne rizične čimbenike (nepokretni, stari, adipozni, muškarci, ranije preboljela VTE, rak, drugi komorbiditeti, hospitalizacija u jedinici intenzivnog liječenja) imaju i veći rizik nastanka VTE-a nego oni s blagim ili asimptomatskim oblikom COVID-19.

Studije temeljene na obdukcijama utvrdile su mikrovaskularne tromboze u COVID-19 bolesnika, koje mogu zahvatiti pluća i druge organe. Slikovne studije su utvrdile različit radiološki izgled PE u COVID-19 bolesnika za razliku od PE bolesnika koji nemaju COVID-19, s više periferno lokaliziranih ugrušaka u COVID-19 PE. Navedeno opažanje podržava hipotezu da PE u COVID-19 bolesnika nastaje više kao posljedica *in-situ* imunosne tromboze nego li zbog embolizacije iz tromboza dubokih vena

u ekstremitetima. Razmatra se i utjecaj terapije protiv COVID-19 (antivirusni lijekovi, kortikosteroidi, anti-citokini, monoklonalna protutitijela, rekovaletna plazma) na protrombotski rizik kao i na interakcije s farmakološkom tromboprofilaksom.

Razvoj koagulopatije jedan je od najznačajnijih pokazatelja lošeg ishoda u COVID-19. Primjerice, publicirana analiza bolesnika s COVID-19 pneumonijom pokazala je da su abnormalni koagulacijski testovi povezani sa smrtnim ishodom. U toj studiji bolesnici s COVID-19 pneumonijom, koji su kasnije preminuli, kod prijema u bolnicu imali su značajno više D-dimere i fibrinske degradacijske produkte te duže protrombinsko vrijeme (PV) nego preživjeli bolesnici ($p < 0,001$). Diseminiranu intravaskularnu koagulaciju (DIK) je razvilo čak 71,4% umrlih s COVID-19 pneumonijom (medijan vremena nastanka DIK-a bio je 4 dana od prijema u bolnicu) za razliku od 0,6% u preživjelih.

Međunarodno udruženje za trombozu i hemostazu (engl. *International Society on Thrombosis and Hemostasis*, ISTH) objavilo je preporuke o tromboprofilaksi i zbrinjavanju koagulopatije u bolesnika s COVID-19, s napomenom da će se navedene preporuke redovito obnavljati ovisno o novim saznanjima. S obzirom na to da do sada prikupljeni podatci pokazuju da su značajno povišeni D-dimeri prediktor mortaliteta, ISTH sugerira da oboljele od COVID-19 sa značajno povišenim D-dimerima (što je arbitrarno određeno kao porast D-dimera za 3-4 puta) treba razmotriti za prijem na bolničko liječenje čak i ako nemaju druge teške simptome. Navedeno svakako može pomoći u procjeni kojeg je bolesnika s COVID-19 potrebno hospitalizirati, budući da se dosadašnji pristup trijaže i procjene rizika temelji na kliničkim karakteristikama težine pneumonije i limfocitopenije. Temeljem dosadašnjih literaturnih saznanja, ISTH preporučuje određivanje D-dimera, PV-a i trombocita (od najvažnijeg prema manje važnome) u svih bolesnika s COVID-19, što može pomoći u stratifikaciji bolesnika koji trebaju hospitalizaciju i stroži nadzor, te praćenje PV-a, D-dimera, fibrinogena i trombocita u hospitaliziranih COVID-19 bolesnika; ako nastupi pogoršanje na-

vedenih koagulacijskih pokazatelja, bit će potrebno agresivnije liječenje.

Smjernice za tromboprolifaksu u COVID-19

Brojna međunarodna medicinska udruženja objavila su preporuke o tromboprolifaksi bolesnika s COVID-19, često se ograđujući da se preporuke temelje na niskoj razini i niskoj snazi dokaza s obzirom na to da je riječ o novoj bolesti. Tako ISTH navodi da svi hospitalizirani COVID-19 bolesnici (ne samo oni u jedinicama intenzivne njege) trebaju primati profilaktičke doze niskomolekularnog heparina, osim ako imaju kontraindikacije (na primjer, aktivno krvarenje ili trombocite manje od $25 \times 10^9/L$). Smjernice Američkog društva za hematologiju (eng. *American Society of Hematology*, ASH) sugeriraju korištenje profilaktičkih (a ne intermedijarnih ili terapijskih) doza antikoagulanasa u COVID-19 bolesnika koji su kritično bolesni i koji nemaju sumnju ili dokazanu VTE, isto kao i CHEST i ACC (eng. *American College of Cardiology*) smjernice. CHEST smjernice sugeriraju da se ne koriste direktni oralni antikoagulansi (DOAK) u hospitaliziranih COVID-19 bolesnika, zbog mogućih interakcija s drugim lijekovima, te zbog rizika od rapidnog pogoršanja stanja s povećanim rizikom krvarenja. Ako bolesnik već od ranije prima antikoagulantnu terapiju zbog nekog drugog razloga, može nastaviti s postojećom kroničnom terapijom osim ako ne postane kontraindicirana zbog promjene u kliničkom statusu; tada se preferira promjena na niskomolekularni heparin.

Posebno nedostaju kvalitetni podaci o tromboprolifaksi nakon otpusta iz bolnice COVID-19 bolesnika, no provodi se više kliničkih istraživanja da bi se dobio odgovor na to pitanje. Svakako je nužna klinička procjena rizika od nastanka tromboze, ali i krvarenja kod svakog pojedinog bolesnika. ACC smjernice navode da se može razmotriti produžena tromboprolifaksa (do 45 dana) niskomolekularnim heparinom ili DOAK-om nakon otpusta iz bolnice kod COVID-19 bolesnika koji imaju povišen rizik za VTE (npr. otežanu pokretljivost, aktivni rak, povišene D-dimere više od dva puta iznad normale) i nizak rizik od krvarenja. Talijansko udruženje za trombozu i hemostazu preporuča tromboprolifaksu tijekom hospitalizacije zbog COVID-19 i tijekom dodatnih 7-10 dana nakon otpusta iz bolnice. Postoje i drukčiji stavovi, poput ASH i CHEST smjernica, koje ne preporučaju produženu tromboprolifaksu nakon otpusta iz bolnice jer još nisu poznate stope VTE-a i velikih krvarenja u COVID-19 bolesnika

nakon otpusta iz bolnice.

Još je nesigurnija potreba tromboprolifakse u bolesnika u samoizolaciji zbog blagog oblika COVID-19 sa značajnim komorbiditetima koji ne zahtijevaju hospitalizaciju, ili u bolesnika bez COVID-19 koji su slabije aktivni zbog propisane samoizolacije. Međunarodne smjernice koje se osvrću na takve situacije navode da je takvim COVID-19 bolesnicima potrebno savjetovati da ostanu aktivni u kući, a da se medikamentna tromboprolifaksa treba razmotriti u onih s najvišim rizikom za VTE, poput osoba s ograničenom pokretljivošću, aktivnim rakom ili prethodno preboljelim VTE-om.

S obzirom na to da je riječ o novoj bolesti, još uvijek nedostaju preporuke i stavovi temeljeni na kvalitetnim i snažnim dokazima o raznim aspektima COVID-19, pa tako i o trombozi i tromboprolifaksi, kako se naglašava u većini međunarodnih smjernica koje se bave tom temom. Za očekivati je da će se navedene preporuke redovito obnavljati i doradivati, ovisno o novim saznanjima o toj novoj bolesti, o čemu ćemo nastojati pisati u našem časopisu.

Tromboze, trombocitopenija i cjepiva protiv COVID-19

Veliku pažnju medicinske i opće javnosti privukli su recentno uočeni vrlo rijetki ali i neobični slučajevi tromboza u osoba koje su primile cjepivo Vaxzevria (ranijeg naziva COVID-19 cjepivo AstraZeneca). To su bile tromboze koje su bile neobične iz dva aspekta: uglavnom su nastale na rijetkim lokalizacijama u venama u području glave i trbuha, a često su bile praćene sa sniženim brojem trombocita, što samo po sebi povećava rizik krvarenja i ne javlja se kod uobičajenih tromboza. Prve detaljne analize na malom broju bolesnika nedavno objavljene u najuglednijem svjetskom medicinskom časopisu *New England Journal of Medicine* njemačko-austrijske i norveške skupine znanstvenika ukazuju da navedno ima sličnost s drugim, također izuzetno rijetkim entitetom – heparinom induciranom trombocitopenijom, kada nakon primjene heparina mogu nastati vrlo protrombogene tromboze s istovremenim razvojem niskih vrijednosti trombocita. Sve navedeno zabilježeno je vrlo rijetko. Primjerice, prema podacima Europske medicinske agencije (EMA), glavne regulatorne europske agencije za lijekove, do 4. travnja je u EU i UK cijepljeno 34 milijuna osoba s AstraZeneca cjepivom, a takve tromboze rijetkih lokalizacija su zabilježene do tog datuma u 222 osobe. Zainteresiranima skrećem pažnju na odlično napisane njemačke smjernice za dijagnostiku i zbrinjanje

vanje tromboza povezanih s AstraZeneca cjepivom (Hamostaseologie. 2021 Apr 1).

Opisani su i drugi rijetki poremećaji hemostaze i nakon primanja drugih cjepiva protiv COVID-19. Primjerice, jedan od najuglednijih svjetskih stručnjaka za imunosnu trombocitopeniju (ITP) dr. James Bussel je sa suradnicima prikupio podatke i opisao 20 slučajeva trombocitopenije nakon primanja Pfizerovog (9 bolesnika) i Moderninog (11 bolesnika) mRNA COVID-19 cjepiva u SAD-u, što je objavljeno u uglednom časopisu *American Journal of Hematology*. Od tih 20 bolesnika (medijan dobi 41 godina, 11 žene), 17 nije imalo trombocitopeniju prije cijepljenja, i svih 20 bolesnika bilo je hospitalizirano zbog trombocitopenije. Svi osim jednog od tih opisanih slučajeva trombocitopenije nastupili su nakon prve doze cjepiva. Većina bolesnika imalo je petehije, modrice ili mukozna krvarenja (epistakse, gingivalna ili vaginalna krvarenja), s nastupom simptoma između 1–23 dana (medijan 5 dana) nakon cijepljenja. Većinom su ti bolesnici imali vrlo niske vrijednosti trombocita (raspon $1\text{--}36 \times 10^9 /\text{L}$; medijan $2 \times 10^9 /\text{L}$). Klinička prezentacija i dobar odgovor u većine tih bolesnika na “ITP-terapiju” poput kortikosteroida i IVIg-a te u većine loš odgovor na transfuzije trombocita ukazuje na antitijelima-posredovano odstranjivanje trombocita u opisanih bolesnika. Autori zaključuju da ne mogu isključiti mogućnost da Pfizerovo i Modernino cjepivo ima potencijal potaknuti *de novo* ITP, iako vrlo rijetko. Za sada nije moguće razlikovati cjepivom-potaknuti sekundarni ITP od primarnog ITP-a koji je slučajno koincidirao s cijepljenjem. Potrebno je daljnje praćenje kako bi se utvrdila prava incidencija trombocitopenije nakon cijepljenja. Autori ističu preporuku žurne kontrole vrijednosti trombocita u svakoga tko razvije abnormalna krvarenja nakon cijepljenja. Bez obzira na ova opažanja, incidencija simptomatske trombocitopenije nakon cijepljenja je značajno niža od rizika smrti i morbiditeta od COVID-19, zaključuju autori.

Literatura:

1. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost.* 2020 Apr;18(4):844-847.
2. Thachil J, Tang N, Gando S, i sur. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020 May;18(5):1023-1026.
3. Zhang J, Zhou L, Yang Y, Peng W, Wang W, Chen X. Therapeutic and triage strategies for 2019 novel coronavirus disease in fever clinics. *Lancet Respir Med.* 2020 Mar;8(3):e11-e12.
4. Pulanić D. Tromboprofilaksa i koagulopatija u COVID-19 – aktualna saznanja. *Liječ Vjesn.* 2020;142(3-4):114-115.
5. Greinacher A, Thiele T, Warkentin TE, Weisser K, Kyrle PA, Eichinger S. Thrombotic Thrombocytopenia after ChAdOx1 nCov-19 Vaccination. *N Engl J Med.* 2021 Apr 9. doi: 10.1056/NEJMoa2104840. Online ahead of print.
6. Schultz NH, Sørvoll IH, Michelsen AE, Munthe LA, Lund-Johansen F, Ahlen MT, Wiedmann M, Aamodt AH, Skattør TH, Tjønnfjord GE, Holme PA. Thrombosis and Thrombocytopenia after ChAdOx1 nCoV-19 Vaccination. *N Engl J Med.* 2021 Apr 9. doi: 10.1056/NEJMoa2104882. Online ahead of print.
7. Oldenburg J, Klamroth R, Langer F, Albisetti M, von Auer C, Ay C, Korte W, Scharf RE, Pötzsch B, Greinacher A. Diagnosis and Management of Vaccine-Related Thrombosis following AstraZeneca COVID-19 Vaccination: Guidance Statement from the GTH. *Hamostaseologie.* 2021 Apr 1. doi: 10.1055/a-1469-7481. Online ahead of print.
8. Lee EJ, Cines DB, Gernsheimer T, Kessler C, Michel M, Tarantino MD, Semple JW, Arnold DM, Godeau B, Lambert MP, Bussel JB. Thrombocytopenia following Pfizer and Moderna SARS-CoV-2 vaccination. *Am J Hematol.* 2021 May 1;96(5):534-537. doi: 10.1002/ajh.26132. Epub 2021 Mar 9.
9. Pulanić D. Tromboze i COVID-19. *Liječničke novine.* 2021;198:47.

Značajan porast novodijagnosticiranih hematoloških malignih bolesti u KBC Split nakon prvog popuštanja epidemioloških mjera 2020. godine

Marin Šimunić, Marinka Jakić-Bubalo

Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Split

Sažetak

U svrhu suzbijanja prvog vala pandemije virusa SARS-CoV-2 krajem ožujka 2020. godine uvedene su posebne epidemiološke mjere, između ostalog smanjivši redovne kapacitete rada s hematološkim bolesnicima. S obzirom na to da je, vezano za ovaj i druge uzročnike, riječ o najranjivijoj skupini bolesnika, smatrali smo važnim procijeniti učinak novonastalih uvjeta na dijagnostiku i liječenje hematoloških bolesti. U ovome članku prikazujemo naša opažanja neuobičajeno visoke incidencije malignih hematoloških bolesti nakon prve faze popuštanja epidemioloških mjera u svibnju i lipnju 2020.

Uvod

Krajem veljače 2020. godine u Hrvatskoj je zabilježen prvi slučaj zaraze novim sojem koronavirusa "SARS-CoV-2", odnosno bolesti COVID-19. Kao i u razvijenijim zemljama zapadne Europe, zdravstveni sustav Hrvatske se u svrhu suzbijanja prvog vala pandemije prilagodio novonastaloj situaciji uvođenjem posebnih mjera, među kojima se niz mjera odnosio na smanjenje dotadašnjih kapaciteta bolničkih ustanova.

Sukladno odlukama nacionalnih tijela, KBC Split je 25. ožujka 2020. relocirao stacionar Zavoda za hematologiju radi oslobađanja prostora za tzv. Respiracijsko-intenzivistički centar, specijaliziran za liječenje bolesnika s infekcijom SARS-CoV-2 i njenim komplikacijama. Broj kreveta u stacionaru je smanjen za otprilike 60%, hematološka Dnevna bolnica je djelovala u smanjenom kapacitetu, a rad hematološke ambulante je tijekom ovog razdoblja u potpunosti obustavljen. Već u proljeće 2020. godine, brojne su inozemne skupine identificirale bolesnike s malignim hematološkim bolestima kao najranjivije u kontekstu nove pandemije, svrstavši ih prema rizicnosti ispred onkoloških bolesnika, zbog čega je redukcija kapaciteta tercijarne zdravstvene skrbi usmjerene na ovu populaciju predstavljala ozbiljne rizike za uspješnu dijagnostiku i liječenje. Dodatno je u ovom razdoblju objavljen niz znanstvenih radova u kojima su postavljene hipoteze o mogućem

padu učinkovitosti zdravstvenih sustava u utvrđivanju novonastalih onkoloških i hematoloških bolesti, kao rezultat epidemioloških mjera i smanjenog opsega redovnih bolničkih aktivnosti.

U ovome radu analizirali smo učinak ponovnog otvaranja punog kapaciteta Zavoda za hematologiju (stacionara i Dnevne bolnice) na broj novodijagnosticiranih slučajeva malignih hematoloških bolesti tijekom svibnja i prve polovice lipnja 2020. godine.

Metodologija

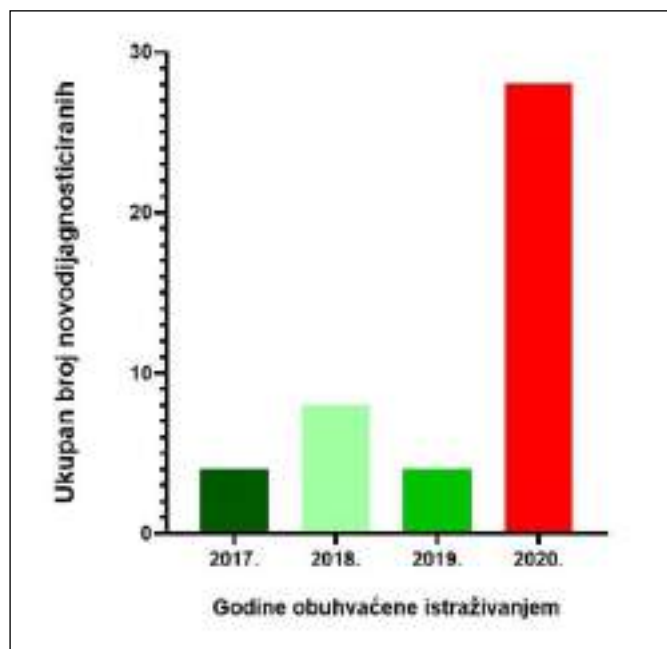
U svrhu analize podataka o broju novodijagnosticiranih malignih hematoloških bolesti, pregledani su nalazi iz poliklinike, hematološke Dnevne bolnice te povijesti bolesti bolesnika hospitaliziranih u Zavodu za hematologiju za 4 razdoblja: 1. svibnja - 15. lipnja 2020. za testnu skupinu, a za kontrolne skupine ista razdoblja tijekom prethodne 3 godine (1. svibnja - 15. lipnja 2017. godine; 1. svibnja - 15. lipnja 2018. godine; 1. svibnja - 15. lipnja 2019. godine), u kojima se sličan fenomen ponovne uspostave redovnog rada kao u 2020. godini, dakako, nije pratio.

U studiju su uključeni bolesnici oba spola, stariji od 18 godina, kojima su dijagnosticirane bolesti svrstane u poglavlje „Zloćudne novotvorine limfatičnoga, hematopoetskoga i srodnoga tkiva (C81 – C96)” Desete revizije Međunarodne klasifikacije bolesti i srodnih zdravstvenih problema ("MKB-10"), i to: Hodgkinova bolest (C81.0 – C81.9 prema MKB-10), folikularni i ne-folikularni limfom (C82.0 – C83.9), ostale i nespecificirane vrste non-Hodgkin limfoma (C85.1 – C85.9) te multipli mijelom i zloćudne plazmocitne novotvorine (C90.0 – C90.3). Iz studije su isključene dijagnoze limfoma T/NK stanica (C84.0 – C84.9; C86.0 – C86.6), zloćudne imunoproliferativne bolesti (C88.0 – C88.9), leukemije i ostale nespecificirane zloćudne novotvorine limfatičnoga, hematopoetskoga i srodnih tkiva (C91.0 – C96.9) kao i policitemija vera i nemaligne hematološke bolesti, iz poglavlja D45 i D50 – D89 Desete revizije MKB-a.

Među ukupnim brojkama za svaku godinu u studiji je utvrđeno postoji li statistička značajnost odstupanja broja novodijagnosticiranih, i to korištenjem tzv. ESD metode ("extreme studentized deviate"), odnosno Grubbsovog testa stršećih vrijednosti.

Rezultati

Rezultati su ukratko prikazani na Slici 1.



Slika 1. Brojevi novodijagnosticiranih zloćudnih hematoloških bolesti u KBC Split tijekom svibnja i prve polovice lipnja, za 2017., 2018., 2019. i 2020. godinu.

U kontrolnim skupinama se tijekom prethodne 3 godine (2017.-2019.) u istom vremenskom razdoblju od 1. svibnja do 15. lipnja odgovarajućih godina bilježi sličan broj novooboljelih ($n = 4$ za 2017., $n = 8$ za 2018., $n = 4$ za 2019. godinu), uz udio bolesnika prema različitim dijagnozama prikazan u Tablici 1. U 2018. godini bilježi se odstupanje ($n = 8$) u odnosu na 2017. i 2019. godinu ($n = 4$). S druge strane, 2020. dijagnoza limfoma non-Hodgkin postavljena je kod 17 bolesnika, dijagnoza Hodgkinove bolesti kod 5, a multipli mijelom kod 7 bolesnika. Ukupno je time broj novodijagnosticiranih u navedenom razdoblju 2020. godine jednak 28.

Koristeći ESD metodu/Grubbsov test utvrdili smo da je broj novodijagnosticiranih bolesnika u svibnju i prvoj polovici lipnja 2020. signifikantno uvećan ($p < 0.05$) u odnosu na ista razdoblja tijekom prethodne tri godine.

Distribucija bolesnika prema dijagnozama prikazana je u Tablici 1.

	2017.	2018.	2019.	2020.
Hodgkinova bolest	1	2	0	5
multipli mijelom	2	1	3	7
non-Hodgkin limfom	0	5	1	16
ostalo	1	0	0	0

Tablica 1. Distribucija bolesnika prema različitim dijagnozama u KBC Split u razdobljima od 1. svibnja do 15. lipnja, od 2017. do 2020. godine.

Rasprava

Ovom studijom prikazali smo značajno povećanje broja novodijagnosticiranih hematoloških malignih bolesti u KBC Split, u razdoblju nakon popuštanja epidemioloških mjera usmjerenih na smanjenje opsega pandemije SARS-CoV-2.

Smanjenje broja bolesnika koji zahtijevaju bolničke usluge nevezane za novi soj koronavirusa, među njima i veliki broj hematoloških bolesnika, je u prvim tjednima nakon ograničenja redovnog pogona bolnica predstavljao dobrodošlu promjenu koja je trebala olakšati preusmjerenje na liječenje bolesnika zaraženih virusom SARS-CoV-2. Ipak, među prvim objavljenim izvješćima, smjernicama i mišljenjima skupina hematologa, tijekom prvog vala pandemije, pojavila se zabrinutost za posebice ugrožene hematološke bolesnike. Rastući broj objavljene literature je tijekom sljedećih mjeseci upozoravao na činjenicu da određeni broj bolesnika, dijelom i zbog psiholoških učinaka pandemije, odgađa posjet liječniku. Već do polovice 2020. godine se u najčitanijim znanstvenim časopisima poput NEJM, Cancer, Lancet i drugima počela izražavati zabrinutost za učinak ovog fenomena na moguće komplikacije i lošije ishode zloćudnih bolesti.

Bilo bi važno utvrditi vrijeme proteklo od prvih simptoma u bolesnika u ovoj studiji do postavljanja dijagnoze, te ih usporediti s prethodnim godinama; i naposljetku razlike u ishodu liječenja ovih bolesnika, u odnosu na bolesnike dijagnosticirane prethodnih godina. Pregledom literature utvrdili smo da je statistički test korišten u ovoj studiji značajno pouzdaniji ako se uspoređuje najmanje šest vrijednosti, stoga bi bilo zanimljivo usporediti 2020. godinu i razdoblje od 2015. do 2019. godine.

Zaključak

Ovom studijom dokazali smo da je, nakon povratka na puni opseg rada u našem stacionaru i Dnevnoj bolnici, broj novih dijagnoza značajno porastao u odnosu na godine koje nisu bile obilježene pandemijom. Tijekom narednih mjeseci i godina očekujemo dodatna saznanja i opažanja vezana za učinak pandemije, i prilagodbu zdravstvenog sustava pandemiji, na liječenje i prognozu bolesnika s hematološkim zloćudnim bolestima.

Literatura:

- Hrvatski zavod za javno zdravstvo. "Protuepidemijske mjere za zdravstvene ustanove, djelatnike i posjetitelje". Objavljeno u ožujku 2020. https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2020/03/Mjere_zdravstvo_bolnicke_ustanove-2.pdf. Stranica posjećena 04.04.2021.
- Hrvatski zavod za javno zdravstvo. "COVID-19 – Priopćenje prvog slučaja". Objavljeno 25. Veljače 2021. Stranica posjećena 04.04.2021.
- Lee LY *et al.* COVID-19 prevalence and mortality in patients with cancer and the effect of primary tumour subtype and patient demographics: a prospective cohort study. *The Lancet Oncology*. 2020; 21: 1309–16.
- Girmania C *et al.* COVID-19 in Patients with Hematologic Disorders Undergoing Therapy: Perspective of a Large Referral Hematology Center in Rome. *Acta Haematologica*. 2020; 143(6): 574–582.
- Centre for Disease Control. Evidence used to update the list of underlying medical conditions that increase a person's risk of severe illness from COVID-19. www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/need-extra-precautions/evidence-table.html. Stranica posjećena 04.04.2021.
- National Comprehensive Cancer Network: Cancer and COVID-19 vaccination. www.nccn.org/covid-19/pdf/COVID-19_Vaccination_Guidance_V1.0.pdf. Stranica posjećena 04.04.2021.
- Passamonti F *et al.* Clinical characteristics and risk factors associated with COVID-19 severity in patients with haematological malignancies in Italy: a retrospective, multicentre, cohort study. *Lancet Haematology*. 2020; 7(10): E737-E745.
- Wang Q *et al.* When hematologic malignancies meet COVID-19 in the United States: Infections, death and disparities. *Blood Rev*. 2020; 100775.
- Uzzo RG *et al.* COVID-19: Risks for infection, clinical presentation, testing, and approach to infected patients with cancer. <https://www.uptodate.com/contents/covid-19-risks-for-infection-clinical-presentation-testing-and-approach-to-infected-patients-with-cancer> Ažurirano 2. travnja 2021. Stranica posjećena 04.04.2021.
- U.S. Centers for Disease Control and Prevention. National Syndromic Surveillance Program (NSSP): Emergency Department Visits Percentage of Visits for COVID-19-Like Illness (CLI) or Influenza-like Illness (ILI) September 29, 2019 - April 4, 2020 Data as of April 9, 2020. Washington: U.S. Department of Health and Human Services. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/covid-data/covidview/04172020/covid-like-illness.html>. Stranica posjećena 04.04.2021.
- Gavin C. As COVID-19 Spreads, Massachusetts Hospitals See Decline in Visits for Other Illnesses. *Boston.com*. Boston Globe Media Partners. Objavljeno 30. ožujka 2020. March 30, 2020. <https://www.boston.com/news/health/2020/03/30/massachusetts-coronavirus-emergency-rooms>. Stranica posjećena 04.04.2021.
- Luhby T *et al.* Some ER Doctors Are Losing Pay and Hours Even as Coronavirus Rages. *CNN Politics*. Cable News Network. April 8, 2020. Accessed April 25, 2020. <https://www.cnn.com/2020/04/08/politics/emergency-doctors-hospitals-losing-pay-covid/index.html>. Stranica posjećena 04.04.2021.
- Morelli N *et al.* The baffling case of ischemic stroke disappearance from the casualty department in the COVID-19 era. *Eur Neurol*. 2020; 1(3):1-3.
- Tam CF *et al.* Impact of coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak on ST-segment-elevation myocardial infarction care in Hong Kong, China. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2020; 13:e006631.
- Deerberg-Wittram J, Knothe C. Do Not Stay at Home: We Are Ready for You. *NEJM Catalyst*. Objavljeno 5. svibnja 2020. <https://catalyst.nejm.org/doi/full/10.1056/CAT.20.0146> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7309152/> Stranica posjećena 04.04.2021.
- Sud A *et al.* Collateral damage: the impact on outcomes from cancer surgery of the COVID-19 pandemic. *Annals of Oncology*. 2020; 31(8): 1065-1074.
- Morris EJA *et al.* Impact of the COVID-19 pandemic on the detection and management of colorectal cancer in England: a population-based study. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*. 2021; 6(3): 199-208.
- UK NHS. Specialty guides for patient management during the coronavirus pandemic. Clinical guide for the management of non-coronavirus patients requiring acute treatment: cancer. Objavljeno 23. ožujka 2020. <https://www.england.nhs.uk/coronavirus/wpcontent/uploads/sites/52/2020/03/specialty-guide-acute-treatmentcancer-23-march-2020.pdf> Stranica posjećena 04.04.2021.
- Banna G *et al.* How we treat patients with lung cancer during the SARS-CoV-2 pandemic: primum non nocere. *ESMO Open* 2020; 5 (suppl 2): e000765.
- The UK Coronavirus Cancer Monitoring Project team. The UK Coronavirus Cancer Monitoring Project: protecting patients with cancer in the era of COVID-19. *Lancet Oncol* 2020; 21: 622–24.
- He W *et al.* COVID-19 in persons with haematological cancers. *Leukemia*. 2020; 34: 1637–45.
- Kuderer NM *et al.* Clinical impact of COVID-19 on patients with cancer (CCC19): a cohort study. *Lancet*. 2020; 395: 1907–18.
- Barbato G *et al.* Features and performance of some outlier detection methods. *Journal of Applied Statistics*. 2011; 38(10): 2133–2149.

Transplantacija krvotvornih matičnih stanica u KBC Split

Dominik Lozić

Zavod za hematologiju
Klinika za unutarnje bolesti
KBC Split

Krajem veljače 2021. u KBC Split je provedena prva autologna transplantacija krvotvornih matičnih stanica 62-godišnjoj bolesnici s multiplim mijelomom.

U Splitu se o transplantaciji matičnih stanica razmišlja više od 20 godina te je donacijom proslavljenog hrvatskog tenisača Gorana Ivaniševića Udruzi leukemije i limfomi kao prvi uređaj potreban pri dijagnostici zloćudnih hematoloških bolesti nabavljen protočni citometar potreban za dijagnostiku akutnih leukemija kao i za određivanje udjela matičnih stanica u bolesniku i u transplantatu.

Početkom 2008. na inicijativu tadašnjeg ravnatelja prof. Dujomira Marasovića pod vodstvom prof. dr. sc. Borisa Labara osnovan je multidisciplinarni tim za provođenje projekta transplantacije, a nakon izrade elaborata i odobrenja Upravnog vijeća pristupilo se nabavi opreme i uređenju hematološkog odjela.

Nakon ispunjenja tehničkih i kadrovskih uvjeta, uključujući edukaciju osoblja u KBC Zagreb, Ministarstvo zdravstva je tijekom ljeta 2011. izdalo rješenje za početak provođenja transplantacije. Međutim, vrlo brzo su postali očiti neki tehnički nedostaci u prostoru Odjela za transfuziju, a rješavanje navedenoga problema nije bilo jednostavno kako je u početku izgledalo. Također, tijekom narednih godina zakonski zahtjevi u pogledu prostora i opreme postajali su sve stroži te su često nakon ispunjenja važećih odredbi na snagu stupili novi pravilnici koji su uvijek zahtijevali ulaganje dodatnih sredstava za uređenje prostora kao i nabavu novije opreme.

Prije nekoliko godina nova uprava KBC Split pristupila je ostvarenju projekta transplantacije uz veći entuzijazam uprave i djelatnika te je obnovljena oprema jer je ranija zastarjela, nakon čega je provedena edukacija osoblja hematologije i transfuziologije u KBC Zagreb. Konačno, u listopadu 2021. dobiveno je odobrenje Ministarstva zdravstva za provođenje

transplantacije te je prva bolesnica primljena radi prikupljanja matičnih stanica, ali postupak nije proveden zbog pozitivnog nalaza virusa SARS-Cov-19. Nakon toga su tijekom siječnja i veljače dvjema bolesnicama s multiplim mijelomom prikupljene matične stanice, a prvoj od njih napravljena je reinfuzija 23. 2. 2021., dok je sljedećoj transplantacija provedena odmah nakon otpusta prve bolesnice iz bolnice. Postupci su obavljani uz konzultacije hematologa i transfuziologa iz KBC Zagreb.

Važno je naglasiti da je postupak transplantacije timski rad u koji su, osim hematologa, uključeni transfuziolozi i transfuziološki tehničari, medicinski biokemičari i mikrobiolozi, a u liječenju bolesnika neizostavna je uloga medicinskih sestara koje su neprekidno uz bolesnika tijekom boravka u sterilnoj jedinici.

U KBC Split planiramo provoditi 10-15 autolognih transplantacija godišnje, a u ovom trenutku ograničava-



vajući nam je čimbenik postojanje samo 2 sterilne jedinice, koje koristimo i za liječenje drugih hematoloških bolesnika (prvenstveno s akutnom leukemijom), a osim bolesnika s multiplim mijelomom namjeravamo liječiti i one s limfomom. Ovim postupkom omogućavamo bolesnicima boravak u svojoj sredini, bez potrebe za odlazak u Zagreb, gdje se transplantacija obavlja u 3 bolničke ustanove. Za sada ne planiramo provoditi alogeničnu transplantaciju matičnih stanica zbog složenije dijagnostike i zbrinjavanja posttransplantacijskih komplikacija.

Osjećamo potrebnim zahvaliti najprije prof. Borisu Labaru koji nas je vodio i pomagao nam do odlaska u mirovinu, zatim prof. Marasoviću i svim sljedećim upravama KBC Split te sadašnjem ravnatelju prof. Meštoviću koji je ovaj projekt doveo do ostvarenja. Također veliku pomoć nam je pružala Udruga leukemije i limfomi svojom potporom i materijalnim sredstvima kojima je nabavljen dio potrebne opreme.

Liječenje akutne promijelocitne leukemije u doba COVID-19 pandemije - iskustvo KB Merkur

Inga Mandac Smoljanović¹, Dejan Strahija², Viktor Zatezalo¹,
Slobodanka Ostojčić Kolonić¹, Delfa Radić-Krišto¹

¹Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KB Merkur, Zagreb

²Odjel za hematologiju, OB Varaždin

Uvod

Akutna promijelocitna leukemija (AML-M3, APL) podtip je akutne mijeloične leukemije sa specifičnom kliničkom i molekularnom prezentacijom. Većina bolesnika mlađe je dobi s laboratorijski verificiranom leukopenijom ili leukocitozom uz životno ugrožavajuću diseminiranu intravaskularnu koagulaciju (DIK). Specifičan dokaz pomoću citogenetika, FISH-a ili PCR-a je nalaz recipročne translokacije t(15;17) koja rezultira fuzijom PML gena na kromosomu 15 i RARA gena na kromosomu 17 (PML-RARA). Prema broju leukocita prilikom postavljanja dijagnoze APL se dijeli na leukemiju niskog (leukociti < 10x10⁹/L) i visokog rizika (leukociti >10x10⁹/L) (1-3).

APL se smatra hitnim stanjem zbog visoke rane smrtnosti uslijed krvarenja, diferencijacijskog sindroma i mogućih infekcija. U trenutku kada s postavi sumnja na APL potrebno je odmah u terapiju uvesti transretinoičnu kiselinu (ATRA), a kod potvrde dijagnoze započne se s indukcijskom terapijom prema protokolu ovisno o riziku bolesti.

Diferencijacijski sindrom smatra se komplikacijom indukcijske terapije uzrokovan ATRA i ATO učinkom na leukemijske blaste. Radi sprječavanja diferencijacijskog sindrom uz ATRA-u se u terapiju uvode i kortikosteroidi (deksametazon 10 mg i.v. 2x dnevno), a kod pacijenata koji se prezentiraju leukocitozom citoreduktivna terapija provodi se hidrokisiurejom do početka indukcijske terapije. Bolesnici niskog rizika kod kojih dolazi do razvoja leukocitoze nakon početka liječenja ne reklasificiraju se u bolest visokog rizika već se leukocitoza smatra znakom ATRA/ATO inducirane diferencijacije (1,2).

S obzirom na razvoj koagulopatije, od iznimne je važnosti svakodnevno, a po potrebi i češće kontrolirati koagulacijske parametre (PV, INR, APTV, TV, fibrinogen, D-dimeri) uz kontrolu trombocita te korigirati eventualna odstupanja (krioprecipitat, trombociti, svježe smrznuta plazma) kako bi se spriječio razvoj DIK-a što može dovesti do po život opasnih krvarenja. Potrebno je održavati koncentraciju fibri-

nogena iznad 150 mg/dL, broj trombocita iznad 50 x10⁹/L, INR ispod 1,5. Rutinska primjena heparina, traneksamične kiseline ili ostalih antikoagulanata/antifibrinolitičkih lijekova, nije opravdana.

Invazivniji postupci poput postavljanja centralnog venskog katetera, lumbalnih punkcija, ne bi se trebali izvoditi prije ili tijekom indukcijske terapije zbog visokog rizika za krvarenje. Osim koagulacijskih parametara veoma je važna kontrola elektrolita (kalija i magnezija) te održavanje njihove koncentracije bliže gornje granice referentnih vrijednosti (1,7).

Kod terapije arsenovim trioksidom (ATO) potrebno je minimalno dva puta tjedno bolesniku napraviti elektrokardiogram (EKG) s obzirom na to da može doći do prolongacije QT/QTc intervala (1,2).

Obradom se također može dokazati mutacija FLT3 ITD no nedavni podaci ne potvrđuju lošiju prognozu kod pacijenata koji su liječeni s ATRA + ATO (1,2).

Protokol liječenja akutne promijelocitne leukemije ovisi o riziku bolesti, a primjenjuju se transretinoična kiseline (ATRA) uz arsenov trioksid (ATO) te ovisno o riziku dodaje se kemoterapija (idarubicin/daunorubicin).

Iako postoji više varijanti protokola za liječenje, APL niskog rizika liječi se najčešće prema protokol APL0406, a APL visokog rizika prema protokolu APML4.

U APL0406 studiji, nakon medijana praćenja od 40,6 mjeseci, „ne-kemoterapijski“ pristup ATO+ATRA, rezultirao je značajnim poboljšanjem OS-a kod bolesnika s niskim/intermedijarnim rizikom, u odnosu na ATRA+kemoterapija (99,2% vs 92,6% nakon 50 mjeseci).

Nedavno objavljeni rezultati Platzbeckera i suradnika iz APL0406 studije, tijekom medijana praćenja od 66 mjeseci, pokazali su šestogodišnji EFS značajno bolji u grupi ATO+ATRA (96,6%) u usporedbi s ATRA+ kemoterapija grupom (77,4%).

Kumulativna incidencija relapsa je u ATO+ATRA grupi bila 1,7%, u usporedbi s ATRA+kemoterapija

(15,5%) (6).

Prilikom postavljanja sumnje na APL, u terapiju se uključuje ATRA. Ako se APL isključi ATRA se prekida, a u slučaju potvrde dijagnoze započinje se s indukcijskom terapijom. Važno je napomenuti da jednom započeti protokol treba pratiti kroz sve etape liječenja, bez kombiniranja s drugim protokolima kako bi se postigao najbolji uspjeh (4,5).

Ako dođe do ranog relapsa bolesti (manje od 6 mjeseci nakon završetka terapije) prema preporukama NCCN-a, ako je bolesnik liječen s ATRA + ATO bez antraciklina, preporuka je u relapsu primijeniti protokol koji uključuje antracikline.

Kod kasnog relapsa bolesti (više od 6 mjeseci nakon završetka terapije) preporuka je primijeniti isti protokol ATRA + ATO uz mogućnost dodatka antraciklina prema procjeni vodećeg liječnika. U slučaju postizanja druge kompletne remisije, preporuka je kod transplantabilnog bolesnika provesti autolognu transplantaciju perifernih hematopoetskih matičnih stanica, a kod netransplantabilnih može se nastaviti ATO konsolidacija kroz 6 ciklusa. Alogenična transplantacija rezervirana je za bolesnike u drugom relapsu bolesti (1-3).

Kako smo liječili akutnu promijelocitnu leukemiju niskog rizika?

Slučaj 1.

39-godišnji bolesnik hospitaliziran je radi nastavka liječenja akutne promijelocitne leukemije koja je dokazana u svibnju 2020. godine. Dijagnostičkom obradom verificirana je translokacija t(15;17) uz pozitivan fuzijski prijepis PML-RAR alfa (FLT3 negativan).

S obzirom na niže vrijednosti leukocita kod dijagnoze, postavljena je dijagnoza AML-M3 niskog rizika, te je započeto liječenje prema „chemotherapy free“ protokolu s ATRA + ATO. Revizijom liječenja 35. dan indukcijske terapije potvrđena je kompletna remisija bolesti uz i dalje pozitivan PML-RAR alfa te je nastavljeno liječenje konsolidacijom.

Reevaluacijom nakon prve konsolidacije potvrđena je morfološki i molekularno MRD negativna kompletna remisija zbog čega je nastavljeno liječenje s još tri konsolidacije. Aktualno je bolesnik pri završetku četvrte konsolidacije nakon čega je u planu završna reevaluacija te ako je pacijent i dalje u kompletnoj remisiji u nastavku se planira terapija održavanja.

Prema protokolu NCCN u terapiji za APL niskog rizika koristili smo takozvani „chemotherapy free“ protokol.

Primjenjuje se ATRA 45 mg/m² dnevno podijeljeno u dvije doze te ATO 0,15 mg/kg i.v. dnevno. Ako između 28.-35. dana terapije dođe do oporavka trombocita i neutrofila (Tr>100, ANC>1) te se punkcijom koštane srži dokaže remisija bolesti liječenje se nastavlja konsolidacijom prema protokolu ATO 0,15 mg/kg/dnevno i.v. 5 dana u tjednu (uz 2 dana pauze) kroz 4 tjedna svakih 8 tjedana, ukupno 4 ciklusa + ATRA 45 mg/m² dnevno u dvije doze kroz 2 tjedna svaka 4 tjedna kroz ukupno 7 ciklusa (3,5).

Kako smo liječili akutnu promijelocitnu leukemiju visokog rizika?

Slučaj 2.

34-godišnja bolesnica hospitalizirana je na Zavodu za hematologiju zbog bicitopenije (anemija i trombocitopenija) uz leukocitozu (L> 30x10⁹) zabilježene u laboratorijskim nalazima uz poremećaj koagulacije.

Učinjena je citološka punkcija koštane srži čiji je preliminarni nalaz bio visoko suspektan na AML-M3 te je započeto liječenje s transretinoičnom kiselinom (ATRA) uz deksametazon u svrhu prevencije diferencijacijskog sindroma. Naknadno pristigli nalazi, u mijelogramu pozitivan PML-RAR alfa fuzijski transkript (kvantitativno 44200 kopija) i nalaz FISHa u kojem je potvrđena translokacija t(15;17) u 95% interfaznih jezgara potvrđuju dijagnozu akutne promijelocitne leukemije (AML-M3) visokog rizika. Zbog leukocitoze započeta je i citoreduktivna terapija hidroksiurejom. Unatoč poduzetim mjerama kod pacijentice dolazi do razvoja diferencijacijskog sindroma (porast transaminaza, dispneja uz ultrazvučno dokazanu blažu dilataciju lijeve klijetke i pad ejekcijske frakcije srca na 50%, hiperleukocitoza te razvoj DIK-a). Uz potpurnu i simptomatsku terapiju dolazi do stabilizacije kliničkog stanja te se liječenje nastavi indukcijskom terapijom po protokolu za APL visokog rizika (APML4 protokol). Nakon indukcijske terapije reevaluacijom se potvrdi kompletna remisija bolesti te se liječenje nastavi prvom konsolidacijom koja je protekla bez tegoba. U tijeku je liječenje drugom konsolidacijom.

Slučaj 3.

30-godišnja bolesnica hospitalizirana je zbog pojave spontanog hematoma po koži. Učinjenom obradom u citološkoj punkciji koštane srži verificirano 94% atipičnih promijelocita te je postavljena dijagnoza AML-M3 uz dokaz fuzijskog prijepisa PML-RAR alfa, FLT3 pozitivna (dokazana duplikacija FLT3 ITD). U inicijalnim laboratorijskim nalazima

leukocitoza (L $15 \times 10^9/L$), trombocitopenija (Tr $63 \times 10^9/L$) uz koagulopatiju (PV 65%, fibrinogen 1,3 g/L, APTV <20s). Započeto je liječenje ATRA-om uz deksametazon u svrhu prevencije diferencijacijskog sindroma.

S obzirom na to da se kod pacijentice radi o APL visokog rizika započeto je liječenje indukcijskom kemoterapijom terapijom prema protokolu za APL visokog rizika (ATRA+ATO +idarubicin). Unatoč prevenciji tijekom boravka dolazi do diferencijacijskog sindroma te sindroma lize tumora uz razvoj DIK-a. Uz potpurnu i simptomatsku terapiju dolazi do stabilizacije kliničkog stanja te je bez većih komplikacija završeno indukcijsko liječenje nakon čega je punkcijom koštane srži potvrđena kompletna remisija uz negativan kontrolni fuzijski transkript PML-RAR alfa.

Nastavljeno je liječenje prvom konsolidacijom (ATRA+ATO) koja je protekla bez tegoba, a u tijeku je liječenje drugom konsolidacijom po APML4 protokolu. U tijeku je liječenje drugom konsolidacijom prema protokolu za APL visokog rizika (APML4 protokol).

Prema APML4 protokolu (NCCN) u indukciji uz ATRA 45 mg/m²/dnevno u dvije doze od 1.-36. dana u terapiji se primjenjuje i kemoterapija. U naša dva slučaja primijenili smo idarubicin 12 mg/m²/dan (2., 4., 6. i 8. dan) nakon čega je 9. dan započeto liječenje s arsenovim trioksidom (ATO) 0.15 mg/kg/dan do 36. dana indukcijske terapije (doza idarubicina određuje se ovisno o dobi od 6-12 mg/m²/dan).

Dokazanom kompletnom remisijom nakon indukcijske terapije liječenje se nastavlja s dvije konsolidacije ATRA+ATO prema APML4 protokolu.

Nakon druge konsolidacije utvrđenom kompletnom remisijom nastavlja se terapija održavanja (ATRA 45 mg/m²/dan 1.-14. dan; metotreksat 5-15 mg/m²/tjedno 15.-90. dan; 6-merkaptopurin 50-90 mg/m²/dan 15.-90. dan terapije kroz ukupno 8 ciklusa što odgovara razdoblju od dvije godine terapije održavanja) (3,4).

Kako smo liječili akutnu promijelocitnu leukemiju u relapsu?

Slučaj 4.

25-godišnji bolesnik hospitaliziran je zbog nastavka liječenja dokazanog relapsa akutne promijelocitne leukemije u vanjskoj ustanovi. Radi se o bolesniku kojem je u prosincu 2018. godine obradom hematoma slezene zadobivenog pri padu postavljena dijagnoza akutne promijelocitne leukemije te je provedeno liječenje po Hovon79/PETHEMA protokolu

u sklopu kojeg je primio 1. ciklus indukcije i 3. ciklusa konsolidacije uz terapiju održavanja na što je postignuta molekularna remisija bolesti.

U rujnu 2020. godine reevaluacijom bolesti potvrđen je rani relaps bolesti te je započeto liječenje protokolom za APL niskog rizika s obzirom na niži broj leukocita kod inicijalne dijagnoze (prema APL 0406 protokolu). Početkom indukcije došlo je do razvoja diferencijacijskog sindroma koji je prošao bez značajnih kliničkih tegoba. Profilaktički je u terapiju uveden deksametazon, a zbog leukocitoze, koja se razvila nakon početka indukcijske terapije, kratkotrajno je primao i hidroksiureju. Trideseti dan od početka terapije učinjena je citološka punkcija koštane srži kojom se ne nađe aktivnosti APLa zbog čega je liječenje nastavljeno konsolidacijom. Pacijent je završio tri ciklusa konsolidacije te je u planu još jedan nakon čega je zbog relapsa bolesti indicirana autologna transplantacija perifernih hematopoetskih matičnih stanica.

Kako se kod pacijenta radi o relapsu bolesti u vanjskoj je ustanovi započeto liječenje indukcijskom terapijom po APL 0406 protokolu, ATRA 45 mg/m²/dan podijeljeno u dvije doze + ATO 0,15 mg/kg/dan uz postizanje kompletne remisije nakon čega je liječenje nastavljeno konsolidacijom kako je ranije navedeno za APL niskog rizika. Kratkotrajni porast leukocita nakon početka indukcijske terapije ne svrstava pacijenta u visoki rizik već je isti posljedica primijenjene terapije.

U slučaju postizanja druge kompletne remisije nakon konsolidacije preporuka je, s obzirom na to da se radi o relapsu bolesti, a pacijent je kandidat za transplantaciju, provesti autolognu transplantaciju perifernih hematopoetskih matičnih stanica (3,5).

Zaključak

Akutna promijelocitna leukemija (APL) hitno je medicinsko stanje zbog visoke rane smrtnosti uslijed krvarenja, diferencijacijskog sindroma i mogućih popratnih infekcija. Pri postavljanju sumnje na APL obavezno je istog trenutka započeti terapiju s ATRA-om, a nakon potvrde dijagnoze započne se s indukcijskom terapijom te je potrebna redovita kontrola laboratorijskih parametara i kliničke slike zbog pravovremene reakcije kod razvoja diferencijacijskog sindroma. Liječenje je dugotrajno, terapijski protokol ovisi o riziku bolesti, a stopa kompletnih remisija je preko 90%. Kako bi se postigao najbolji odgovor preporuka je ne kombinirati dva ili više protokola nego pratiti jedan od indukcije do kraja konsolidacije i terapije održavanja.

U zadnjim desetljećima, APL je iz „najmalignije“ AML, postupno stekla status „najizlječivije“ AML.

Pitanja koja se postavljaju i danas u liječenju APL-a odnose se na odgovarajuće zbrinjavanje rane smrtnosti u indukcijskoj fazi liječenja (koagulopatije), optimalno doziranje ATO i ATRA, optimalni pristup liječenju APL visokog rizika, uloga intratekalne profilakse, profilaktička primjena kortikosteroida u indukcijskoj fazi u svrhu minimaliziranje komplikacija diferencijacijskog sindroma, terapija održavanja nakon provedene konsolidacije (8).

Iako su uz ATRA + ATO češće hepatotoksičnosti i produljenje QTc intervala, radi se o reverzibilnim nuspojavama koje se povlače nakon redukcije doza lijeka ili privremenog prekidanja terapije (9).

Trenutno liječenje APL-a pomaknulo je iz prve linije transplantaciju krvotvornih matičnih stanica.

Autologna transplantacija krvotvornih perifernih matičnih stanica indicirana je kao konsolidacija kod bolesnika u relapsu, a nakon postizanja druge kompletne remisije.

Alogenična transplantacija može se razmotriti kod bolesnika u vrlo ranom relapsu ili u slučaju ponovnog relapsa nakon postizanja druge kompletne remisije.

U slučaju da bolesnik ne postigne negativan MRD nakon prve konsolidacije (primarna molekularna rezistencija ili molekularna perzistencija) ili ne postigne negativan MRD nakon druge konsolidacije, liječenje se može nastaviti alogeničnom transplantacijom (10).

Literatura:

1. Sanz MA, Fenaux P, Tallman MS et al. Management of acute promyelocytic leukemia: updated recommendations from an expert panel of the European LeukemiaNet. *Blood*. 2019 Apr 11;133(15):1630-41
2. Sanz MA, Grimwade D, Tallman MS et al. Management of acute promyelocytic leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*. 2009 Feb 26;113(9):1875-91
3. NCCN (National Comprehensive Cancer Network) Acute Myeloid Leukemia, Version 3.2021- March 2,2021
4. Iland HJ, Bradstock K, Supple SG et al. Australasian Leukaemia and Lymphoma Group. All-trans-retinoic acid, idarubicin, and IV arsenic trioxide as initial therapy in acute promyelocytic leukemia (APML4). *Blood*. 2012 Aug 23;120(8):1570-80
5. Platzbecker U, Avvisati G, Cicconi L et al. Improved Outcomes With Retinoic Acid and Arsenic Trioxide Compared With Retinoic Acid and Chemotherapy in Non-High-Risk Acute Promyelocytic Leukemia: Final Results of the Randomized Italian-German APL0406 Trial. *J Clin Oncol*. 2017 Feb 20;35(6):605-612
6. Cicconi L, Platzbecker U, Avvisati G, Paoloni F, Thiede C, Vignetti M, et al. Long-term results of all-trans retinoic acid and arsenic trioxide in non-high risk acute promyelocytic leukemia: update of the APL0406 Italian-German randomized trial. *Leukemia* (2020) 34(3):914–8. doi: 10.1038/s41375-019-0589-3
7. Sanz MA, Montesinos P. Advances in the management of coagulopathy in acute promyelocytic leukemia. *Thromb Res* (2020) 191(Suppl 1):S63–7. doi:10.1016/S0049-3848(20)30399-6
8. Kulkarni U, Mathews V. Evolving Chemotherapy Free Regimens for Acute Promyelocytic Leukemia. *Front Oncol*. 2021 Feb 25;11:621566. doi: 10.3389/fonc.2021.621566.
9. Xu, Zheng-Li, and Xiao-Jun Huang. “Therapeutic Approaches for Acute Promyelocytic Leukaemia: Moving Towards an Orally Chemotherapy-Free Era.” *Frontiers in oncology* vol. 10 586004. 20 Oct. 2020, doi:10.3389/fonc.2020.586004
10. Jaime Sanz, Pau Montesinos, Miguel A. Sanz. Role of Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Acute Promyelocytic Leukemia. *Front Oncol*. 2021; 11: doi: 10.3389/fonc.2021.614215

FLT3-pozitivna akutna mijeloična leukemija: izazovi u svakom koraku liječenja

Inga Mandac Smoljanović, Ana Bojanić, Viktor Zatezalo,
Slobodanka Ostojić Kolonić, Delfa Radić-Krišto

Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KB Merkur

Uvod

Akutna mijeloična leukemija (AML) je heterogeni klonalni poremećaj karakteriziran ekspanzijom patoloških mijeloidnih progenitora, odnosno blasta, u koštanoj srži i perifernoj krvi uzrokovan zastojem u diferencijaciji.

Autonoma i nekontrolirana proliferacija leukemijskih blasta interferira s normalnom hematopoezom u koštanoj srži te dovodi do pojave leukemijskih infiltrata u drugim organima što se manifestira općom slabošću, sklonošću krvarenju, pojavom infekcija te drugim simptomima i komplikacijama.

Akutna mijeloična leukemija je najčešća akutna leukemija odrasle dobi, a posljednjih 28 godina se prati i globalni porast incidencije (1-3).

Najvažniji prognostički čimbenici trajanja remisije, pojave relapsa i ukupnog preživljenja su dob i citogenetske abnormalnosti. Kako gotovo polovica bolesnika s AML-om ima uredan kariogram, dodatno se dokazuju potencijalno prisutne molekularne promjene i mutacije (2).

Prema smjernicama ELN-a (eng. European LeukemiaNet) iz 2017., ovisno o genetskim abnormalnostima, akutne mijeloične leukemije svrstavamo u 3 prognostičke skupine odnosno povoljnu, intermedijarnu i nepovoljnu. S obzirom na pojavu novih lijekova u liječenju AML određene mutacije u budućnosti bi se mogle svrstati i u neku drugu prognostičku skupinu (3,4).

Novodijagnosticirane leukemije su rezultat višestrukih genskih mutacija i kromosomskih aberacija, a u prosjeku sadrže više od 10 signifikantnih mutacija od kojih su najčešće FLT3 (28 %), NPM1 (27 %), DNMT3A (26 %) i IDH1/IDH2 (20 %) (4,5).

Enzim tirozin kinaze FLT3 (od eng. FMS-like tyrosine kinase 3) je receptorska tirozin kinaza klase III koja se normalno eksplicira u hematopoetskim matičnim stanicama, ranim mijeloidnim i limfoidnim progenitornim stanicama, a uključena je u proliferaciju, diferencijaciju i apoptozu hematopoetskih stanica (6).

Mutacija FLT3 gena je prisutna u otprilike 30%

de novo AML i dijeli se na 2 podskupine: unutarnja tandemna duplikacija (eng. ITD - internal tandem duplication), koja je češća, te točkasta mutacija domene tirozin kinaze (eng. TKD - tyrosine kinase domain) (7,8).

Obje su mutacije češće u AML-u s urednim kariogramom i aktiviraju FLT3, što rezultira proliferacijom i preživljavanjem leukemijskih stanica. Također, povezane su s višim udjelom blasta kao i višim vrijednostima leukocita u trenutku postavljanja dijagnoze (9).

FLT3-ITD mutacija je nepovoljan prognostički pokazatelj.

Bolesnici s ovom mutacijom na konvencionalnu indukcijsku kemoterapiju postižu slične stope remisije kao i u drugim podtipovima AML-a, ali vjerojatnost relapsa unutar 2 godine nakon transplantacije je znatno veća (30% prema 16 %), a stopa 2 godišnjeg preživljenja je značajno manja (58 prema 71%). Međutim, FLT3-ITD mutacija nije izražena jednakim intenzitetom među svim FLT3-ITD pozitivnim (FLT3-ITD+) bolesnicima. Postoje razlike u razini ekspresije koje utječu na prognozu bolesti, a izražavaju se omjerom ekspresije mutiranog gena u odnosu na FLT3-divljeg tipa (engl. wild type, WT) (10-12).

Uz mutacije FLT3 gena mogu biti prisutne i druge mutacije koje utječu na prognozu bolesti. Primjerice, bolesnici s istovremeno prisutnom FLT3-ITD i NPM1 mutacijom imaju bolju prognozu bolesti u odnosu na one sa samo FLT3-ITD mutacijom. Radi navedenoga, u smjernicama za liječenje akutnih leukemija European LeukemiaNet (ELN) na koje se referira i National Comprehensive Cancer Network (NCCN), bolesnici s prisutnom NPM1 mutacijom bez ili s niskim alelnim udjelom FLT3-ITD (<0,5) imaju dobru prognozu, dok bolesnici s NPM1 mutacijom i visokim omjerom FLT3-ITD (>0,5) ili normalnim NPM1 i niskim FLT3-ITD omjerom (<0,5) imaju intermedijarnu prognozu.

U kategoriju s nepovoljnom prognozom spadaju bolesnici s divljim NPM1 i visokim FLT3-ITD omjerom (>0,5) (4,13).

Danas su nam dostupni inhibitori tirozin kinaza

koji su podijeljeni u dvije skupine: inhibitore prve generacije (midostaurin i sorafenib) te selektivnije FLT3 inhibitore nove generacije (krenolanib, gilteritinib i kvizartinib).

Midostaurin inhibira više receptorskih tirozin kinaza (uključujući FLT3 i KIT kinazu) i pokazao je bolje kliničke rezultate u inicijalnom liječenju zbog poliklonalne prirode AML, dok su selektivniji inhibitori kao krenolanib, gilteritinib i kvizartinib prikladniji za primjenu u relapsu ili kod refraktornih oblika AML-a (14).

Uprava za hranu i lijekove Sjedinjenih Američkih Država (eng. FDA - The United States Food and Drug Administration) i Europska agencije za lijekove (eng. EMA - European Medicines Agency) su odobrili midostaurin za liječenje bolesnika s novodijagnosticiranom FLT3 pozitivnom akutnom mijeloičnom leukemijom u kombinaciji s intenzivnom kemoterapijom kao i za terapiju održavanja nakon konvencionalne konsolidacijske terapije.

Odobrenje se temeljilo na rezultatima ispitivanja 717 AML bolesnika u RATIFY studiji, koja je pokazala da kombinacija midostaurina i standardne indukcijske terapije kod FLT3-ITD ili FLT3-TKD pozitivne AML rezultira značajno duljim ukupnim preživljenjem (75 naspram 26 mjeseci).

Prednost je bila posebno izražena kod bolesnika liječenih alogeničnom transplantacijom krvotvornih matičnih stanica, nakon postignute prve kompletne remisije (15).

U RATIFY studiji ispitivana je i toksičnost midostaurina, te su među najčešćim nuspojavama zabilježene febrilna neutropenija, mučnina, povraćanje, mukozitis, glavobolja, petehije, ekfolijativni dermatitis, epistaksa, hiperglikemija, infekcije gornjih dišnih putova i mišićno-koštana bol. Učestalost blažih nuspojava poput osipa i anemije bila je značajno veća u skupini bolesnika liječenih midostaurinom, dok su nuspojave 3., 4. i 5. stupnja bile bez značajne razlike u odnosu na skupinu koja je primala placebo. Liječenje je prekinuto zbog nuspojava lijeka kod 9% liječenih midostaurinom te u 6% onih koji su primali placebo. Tijekom studije nije bilo nuspojava koje su prouzrokovale smrtni ishod.

U bolesnika liječenih midostaurinom primijećena je povećana učestalost produljenja QTc intervala, razvoja intersticijske bolesti pluća, pneumonitisa te pleuralnih izljeva (14-16).

Unatoč napretku u liječenju AML-a, infektivne komplikacije ostaju značajan čimbenik povezan s morbiditetom i smrtnošću do 7%, uglavnom kao

posljedica sepsa prouzrokovanih gram-negativnim bakterijama i invazivnim gljivičnim infekcijama.

Antifungalna profilaksa je neizostavni dio liječenja bolesnika s AML-om.

Prema ECIL-6 (engl. European Conference on Infections in Leukaemia) smjernicama, posakonazol, je prvi lijek izbora za primarnu antifungalnu profilaksu, ali je ujedno i snažan inhibitor CYP3A4. Midostaurin se također metabolizira putem CYP3A4 i to uglavnom oksidativnim putevima.

Istodobna primjena midostaurina i posakonazola, dovodi do povećane izloženosti midostaurinu. Opažene su teške nuspojave tijekom istodobne primjene midostaurina i posakonazola, poput razvoja plućnog edema, no dalje je ostalo nejasno postoji li izravna povezanost s interakcijom lijekova. S druge strane, retrospektivna podanaliza ispitivanja RATIFY nije pokazala značajni porast nuspojava povezanih s midostaurinom uz istodobno korištenje jakih inhibitora CYP3A4. Budući da je zabilježeno produljenje QTc intervala s jakim inhibitorima CYP3A4, posakonazolom i vorikonazolom te antiemetskim lijekovima poput ondasterona preporučeno je redovito praćenje elektrokardiograma i razinu elektrolita (17).

Prikaz bolesnika

U KB Merкуру na Zavodu za hematologiju 2021. g. primljena je 42-godišnja bolesnica s novodijagnosticiranom akutnom mijelo-monocitnom leukemijom (WHO) odnosno AML-M4 (FAB), FLT3-ITD pozitivna, kojoj je započeto indukcijsko liječenje po 3+7 (danorubicin+citarabin) protokolu. S obzirom na pozitivan FLT3-ITD u visokom omjeru od 08.-21. dana terapije je uveden midostaurin (2x50 mg) uz standardnu antifungalnu profilasku posakonazolom 300 mg dnevno. Nekoliko dana nakon uvođenja midostaurina pojavila se izražena mučnina uz povremeno povraćanje te su radiološki (MSCT-om) zabilježeni obostrani pleuralni izljevi. Tijekom hospitalizacije, 16. dan od početka uzimanja midostaurina u rutinskoj kontroli EKG-a je zabilježena bradikardija uz najniži zabilježeni puls do 35/min, prolongirani QT interval, javili su se klinički znakovi srčanog popuštanja te je došlo do razvoja hipoalbuminemije unatoč nutritivnoj potpori.

Ultrazvukom srca je verificiran dilatiran lijevi atrij, granično uvećana lijeva klijetka uz očuvanu sistoličku funkciju, razvoj dijastoličke disfunkcije te umjerena mitralna regurgitacija. Korigirana je kardiološka terapija, a 7. dan nakon ukidanja midostaurina kontrolni UZV srca opisuje uredan nalaz, elektrokardiografski i normalizacija dužine QT/QTc intervala.

Rasprava

Prisutni su različiti stavovi vezani uz primjenu midostaurina i posakonazola.

Neki smatraju da treba pratiti nuspojave te u slučaju razvoja nuspojava, ponajprije kardiogenih i/ili respiratornih, iz terapije izostaviti midostaurin, što izlaže pacijenta potencijalno opasnim nuspojavama. S druge strane neki predlažu smanjenje doze midostaurina za 50%, što pak potencijalno ograničava terapijski učinak midostaurina (17,18).

Također je predloženo zamijeniti posakonazol drugim antifungicima. Vorikonazol nije pokazao značajnu prednost u odnosu na posakonazol jer je također snažan inhibitor CYP3A4, dok flukonazol i itrakonazol su moguće opcije iako s nižom razinom preporuke.

Kao potencijalno atraktivna alternativa čini se izavukonazol, s obzirom na to da je umjeren inhibitor CYP3A4 i skraćuje QTc interval, no podatci o njegovoj djelotvornosti su kontradiktorni, ponajprije zbog veće stope probojnih gljivičnih infekcija u odnosu na vorikonazol ili posakonazol. Uz izavukonazol se opisuju sinus tahikardije bilo da se primjenjuje kao monoterapija ili uz midostaurin.

Ako nije moguće, zbog klinički značajnih nuspojava (u prvom redu kardijskih) primjenjivati midostaurin uz azole, preporuka je, u slučaju antigljivične profilakse dati mikofungin, ili terapije amfotericin B (17).

Kako i dalje nema jasnih preporuka, ne postoje apsolutne kontraindikacije za istovremenu primjenu midostaurina i posakonazola. Prilikom njihove primjene obavezno je pažljivo praćenje bolesnika uz poseban naglasak na praćenje razine elektrolita i snimanja elektrokardiograma.

Zbog do sada zabilježenih potencijalno smrtonosnih nuspojava poput produljena QT intervala, plućne toksičnosti i plućnog edema, važno je i dalje pratiti i evidentirati interakcije lijekova sa midostaurinom (17,18).

Literatura:

1. Yi M, Li A, Zhou L, Chu Q, Song Y, Wu K. The global burden and attributable risk factor analysis of acute myeloid leukemia in 195 countries and territories from 1990 to 2017: estimates based on the global burden of disease study 2017. *J Hematol Oncol.* 2020 Jun 8;13(1):72
2. Mrózek K, Döhner H, Bloomfield CD. Influence of new molecular prognostic markers in patients with karyotypically normal acute myeloid leukemia: recent advances. *Curr Opin Hematol.* 2007;14:106-114.
3. Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood.* 2017;129(4):424-447.
4. Pogosova-Agadjanyan, E.L., Moseley, A., Othus, M. *et al.* AML risk stratification models utilizing ELN-2017 guidelines and additional prognostic factors: a SWOG report. *Biomark Res* 8, 29 (2020).
5. Ley TJ, Miller C, Ding L, et al. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2013;368(22):2059.
6. Gilliland DG, Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood.* 2002; 100(5):1532-1542.
7. Choi EJ, Lee JH, Lee JH, Park HS, Ko SH, Hur EH, Moon J, Goo BK, Kim Y, Seol M, et al. Comparison of anthracyclines used for induction chemotherapy in patients with FLT3-ITD-mutated acute myeloid leukemia. *Leuk Res.* 2018;68:51–56.
8. Kindler T, Lipka DB, Fischer T. FLT3 as a therapeutic target in AML: still challenging after all these years. *Blood.* 2010; 116:5089–102.
9. Bazarbachi A, Bug G, Baron F, et al. Clinical practice recommendation on hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia patients with *FLT3*-internal tandem duplication: a position statement from the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica.* 2020;105(6):1507-1516.
10. Kayser S, Schlenk RF, Londono MC. Insertion of FLT3 internal tandem duplication in the tyrosine kinase domain-1 is associated with resistance to chemotherapy and inferior outcome. *Blood.* 2009; 114(12):2386-2392
11. Kiyoi H, Naoe T, Nakano Y. Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood.* 1999; 93(9):3074-3080.
12. Whitman SP, Archer KJ, Feng L, Baldus C, Becknell B, Carlson BD i sur. Absence of the wildtype allele predicts poor prognosis in adult de novo acute myeloid leukemia with normal cytogenetics and the internal tandem duplication of FLT3: a Cancer and Leukemia Group B study. *Cancer Res.* 2001;61:7233–7239.
13. Gaballa, S., Saliba, R., Oran, B., et al. Relapse risk and survival in patients with FLT3 mutated acute myeloid leukemia undergoing stem cell transplantation. *Am J Hematol.* 2017;92(4), 331–337.
14. Shandong T, Chunling W, Yue C, Yuan D, Lixiao S, Yuyue S i sur. Prognosis and outcome of patients with acute myeloid leukemia based on FLT3-ITD mutation with or without additional abnormal cytogenetics *Oncol Lett.* 2019 Dec; 18(6): 6766–6774.
15. Pratz KW, Levis M. How I treat FLT3-mutated AML. *Blood.* 2017;129:565–571.
16. R. M. Stone, S. J. Mandrekar, et al. Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation. *N Engl J Med.* 2017; 377(5): 454–464.
17. Zhijie Wang, Jiongheng Cai, Jie Cheng, Wenqianzi Yang, Yifan Zhu, Hongmei Li, Tao Lu, Yadong Chen, Shuai Lu. (2021) FLT3 Inhibitors in Acute Myeloid Leukemia: Challenges and Recent Developments in Overcoming Resistance. *Journal of Medicinal Chemistry* 64:6, 2878-2900.
18. Stemler J, Koehler P, Maurer C, Müller C, Cornely OA. Antifungal prophylaxis and novel drugs in acute myeloid leukemia: the midostaurin and posaconazole dilemma. *Ann Hematol.* 2020;99(7):1429-1440.
19. Cairoli R, Ferrara F, Girmenia C, et al. Management of patients with acute myeloid leukemia undergoing therapy with midostaurin: a focus on antifungal prophylaxis. *Haematol Oncol.* 2021;39(1):20-26.

Smjernice za liječenje bolesnika s novodijagnosticiranom akutnom mijeloičnom leukemijom podobnih za primjenu intenzivne kemoterapije

Mirta Mikulić¹, Nadira Duraković¹, Margareta Radić Antolić¹, Alen Ostojić¹, Klara Dubravčić¹, Ivana Horvat¹, Sanja Prijić¹, Pavle Rončević¹, Radovan Vrhovac¹, Dubravka Sertić¹, Drago Batinić¹, Zinaida Perić¹, Željko Prka², Vlatka Periša³, Delfa Radić-Krišto⁴, Viktor Blaslov⁵, Dominik Lozić⁵, Dragana Grohovac⁶, Hrvoje Holik⁷, Ranka Serventi-Seiwerth¹

¹KBC Zagreb

²KB Dubrava

³KBC Osijek

⁴KB Merkur

⁵KBC Split

⁶KBC Rijeka

⁷OB „Dr. Josip Benčević“ Slavonski Brod

Ove smjernice, namijenjene liječenju bolesnika s novodijagnosticiranom akutnom mijeloičnom leukemijom (AML) izuzev akutne promijelocitne leukemije (APL), podobnih za primjenu intenzivne kemoterapije („*fit*“ bolesnici) i alogeničnu transplantaciju krvotvornih matičnih stanica, dogovorene su tijekom nekoliko sastanaka Radne skupine KroHema za akutne leukemije na Zoomu krajem 2020. godine i u cijelosti su objavljene na web stranicama KroHema. Izrađene su prema svjetskim smjernicama: ELN (1), ESMO (2), NCCN (3) te sadrže i lijekove koji za sada nisu na listi HZZO-a. Ovaj prikaz izdvaja najvažnije točke u liječenju. Smjernice za liječenje relapsno refraktorne AML protokolom CLAG dogovorene su i objavljene u Biltenu Krohema već ranije (4).

Dijagnoza

Dijagnoza AML postavlja se prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije (5) i uključuje nalaze citologije, imunofenotipizacije, citogenetike te molekularne genetike. Pri odluci o načinu liječenja, uzima se u obzir dob bolesnika, pogodnost za intenzivnu terapiju, molekularne ili citogenetske promjene, eventualna prethodna maligna bolest i broj leukocita. Odluka je li bolesnik podoban za primjenu intenzivnu kemoterapiju donosi se ovisno o općem stanju i komorbiditetima, a pomoću indeksa komorbiditeta prema Sorrowu (6), kako je prikazano u Tablici 2. Ovisno o broju pridruženih bodova, bolesnici se dijele na podobne („*fit*“) za primjenu intenzivne kemoterapije, ili nepodobne („*unfit*“), a koji se liječe prema odvojenim smjernicama također objavljenima u ovom broju Biltena.

Liječenje

Okosnica liječenja jest shema koja uključuje jedan ili dva indukcijska ciklusa prema protokolu „3+7“ s antraciklinom i citarabinom, 1-4 konsolidacijska ciklusa srednje visokim dozama citarabina te, ovisno o procjeni rizika prema ELN-u (Tablica 1.) i drugim kliničkim karakteristikama, alogeničnu transplantaciju krvotvornih matičnih stanica (Tablica 3.).

Izdvojeno je opisan postupak u bolesnika s hiperleukocitozom ($L > 100 \times 10^9/L$) kod kojih je preporučena citoredukcija, te postupak u bolesnika sa sumnjom ili povećanim rizikom na infiltraciju središnjeg živčanog sustava.

Ovisno o citogenetskim i molekularnim biljezima dodatno su predviđena specifična liječenja: FLT3 inhibitori midostaurin i gilteritinib u bolesnika s ITD ili TKD mutacijom u genu za FLT3, gemtuzumab-ozogamicin (GO) u mlađih bolesnika s povoljnim rizikom (CBF-AML i NPM1+FLT3-AML), CPX-351 u bolesnika sa sekundarnom AML nakon kemo- ili radioterapije i promjenama vezanim uz MDS (Tablica 4), te decitabin u kombinaciji s venetoklaxsom u TP53+ bolesnika. Bolesnici s mijeloidnim sarkomom dodatno se liječe radioterapijom ostatne tumorske mase.

Procjena odgovora

Procjena odgovora nakon primjene prvog indukcijskog ciklusa predviđena je 21. dan te ako nije postignuta remisija liječenje se odmah nastavlja primjenom drugog indukcijskog ciklusa. Procjena odgovora na liječenje i daljnji postupci opisani su u Tablici 5.

Transplantacija

U donošenju odluke je li u određenog bolesnika

indicirano liječenje transplantacijom krvotvornih matičnih stanica u obzir treba uzeti je li alogenična transplantacija optimalan pristup liječenju leukemije te je li liječenje transplantacijom moguće uzimajući u obzir ukupno zdravlje oboljelog, ko-

morbiditete prema HCT-CI indeksu (7), stanje leukemije (ostatna bolest), dostupnog darivatelja i izvor transplantata. U Tablici 6. prikazane su indikacije za transplantaciju krvotvornih matičnih stanica u bolesnika oboljelih od akutne mijeloidne leukemije.

Tablica 1. Stratifikacija rizika prema ELN 2017 ovisno o genetskim biljezima.

Kategorija rizika	Genetski poremećaj
Povoljni	t(8;21)(q22;q22.1); RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13.1q22) ili t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11 Mutacija NPM1 bez FLT3-ITD ili s FLT3-ITD ^{low} [†] Bialelna mutacija CEBPA
Intermedijarni	Mutacija NPM1 i FLT3-ITD ^{high} [†] Wild-type NPM1 bez FLT3-ITD ili s FLT3-ITD ^{low} [†] (bez genetskih lezija nepovoljnog rizika) t(9;11)(p21.3;q23.3); MLLT3-KMT2A [‡] Citogenetske promjene koje nisu klasificirane kao povoljne ili nepovoljne
Nepovoljni	t(6;9)(p23;q34.1); DEK-NUP214 t(v;11q23.3); KMT2A rearanžman t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR-ABL1 inv(3)(q21.3q26.2) ili t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2, MECOM(EVI1) 25 or del(5q); 27; 217/abn(17p) Kompleksni kariotip [§] , monosomalni kariotip Wild-type NPM1 i FLT3-ITD ^{high} [†] Mutacija RUNX1{ Mutacija ASXL1{ Mutacija TP53#

[†]Low. niski omjer alela (<0.5); high. visoki omjer alela (≥0.5);

[‡]Prisutnost t(9;11)(p21.3;q23.3) je značajnija nego rijetke, istovremene mutacije nepovoljnog rizika

[§] tri ili više nepovezane kromosomske promjene u odsutnosti neke od prema WHO rekurentnih translokacija ili inverzija kao što su t(8;21), inv(16) ili t(16;16), t(9;11), t(v;11)(v;q23.3), t(6;9), inv(3) or t(3;3); AML s BCR-ABL1.

|| definirano kao prisustvo jedne monosomije (osim gubitka X ili Y) udruženo s jednom monosomijom ili strukturnom promjenom kromosoma (osim CBF AML)

{ ovi se biljezi ne smatraju nepovoljnima ako dolaze istovremeno s subtipovima AML povoljnog rizika

#TP53 mutacije značajno su povezane s AML s kompleksnim i monosomalim kariotipom

Tablica 2. Složeni model za procjenu rizika primjene intenzivne kemoterapije ovisno o komorbiditetima (HCT-CI), dobi (augmented HCT-CI) i citogenetskom i molekularnom riziku (AML-CM) (6,7).

Comorbidity	Definition	Score
The HCT-CI		
Arrhythmia	Any type of arrhythmia that has necessitated the delivery of a specific anti-arrhythmia treatment at any time point in the patient's past medical history.	1
Cardiac	Coronary artery disease, [§] congestive heart failure, myocardial infarction, or EF ≤50%	1
Inflammatory bowel disease	Crohn's disease or ulcerative colitis requiring treatment at any time point in patient's past medical history.	1
Diabetes	Requiring treatment with insulin or oral hypoglycemic agents continuously for 4 weeks before start of treatment	1
Cerebrovascular disease	Transient ischemic attack or cerebrovascular accident	1
Psychiatric disturbance	Any disorder requiring continuous treatments for 4 weeks before start of treatment	1

Hepatic, mild	Chronic hepatitis, bilirubin > ULN to 1.5 × ULN, or AST/ALT > ULN to 2.5 × ULN; using the closest value before start of treatment.	1
Obesity	Patients with a body mass index >35 kg/m ² for patients older than 18 years or a BMI-for-age of ≥ 95th percentile for patients of ≤ 18 years of age	1
Infection	Requiring antimicrobial treatment starting from before treatment and continued beyond day 0	1
Rheumatologic	Requiring specific treatment at any time point in the patient's past medical history	2
Peptic ulcer	Based on prior endoscopic or radiologic diagnosis	2
Moderate/severe renal	Creatinine clearance <45, if not available then serum creatinine > 2 mg/dL using the closest value before start of treatment, on dialysis, or prior renal transplantation	2
Moderate pulmonary	Corrected D _L CO (via Dinakara equation) and/or FEV1 of 60%-80% or dyspnea on slight activity	2
Prior malignancy	Any prior malignancy to AML treated at any time point in the patient's past history,	3

Comorbidity	Definition	Score
	excluding non-melanoma skin cancer and other myeloid malignancies.	
Heart valve disease	Of at least moderate severity, prosthetic valve, or symptomatic mitral valve prolapse as detected by echocardiogram.	3
Severe pulmonary	Corrected D _L CO (via Dinakara equation) and/or FEV1 ≤ 65% or dyspnea at rest or requiring oxygen	3
Moderate/severe hepatic	Liver cirrhosis, bilirubin > 1.5 × ULN, or AST/ALT > 2.5 × ULN; using the closest value before start of treatment.	3

The Augmented HCT-CI = all the above + the following

Comorbidity	Definition	Score
Hypoalbuminemia	Value of <3.5 g/dL; using the closest value before start of treatment.	1
Thrombocytopenia	Value of <20,000 cells/μL; using the closest value before start of treatment	1
Elevated LDH	Values of >200-1000 U/L; using the closest value before start of treatment.	1
Elevated LDH	Value of >1000 U/L; using the closest value before start of treatment.	2

The AML-CM = all the above + the following

Component	Definition	Score
Age	50-59 years old	1
Age	≥60 years old	2
ELN cytogenetic/molecular risk groups	Intermediate	1
ELN cytogenetic/molecular risk groups	Adverse	2

Tip liječenja ovisno o ukupnom scoreu: 0-4 *fit*; 5-9 prema procjeni hematologa; ≥10 *unfit*

Tablica 3. Shema liječenja bolesnika s akutnom mijeloičnom leukemijom

Novodijagnosticirana AML prema WHO, osim APL; dob<65/70 godina, podobni za primjenu intenzivne kemoterapije ¹						
Stupanj rizika prema ELN - Dodatne karakteristike	Povoljni rizik		Intermedijarni rizik	Nepovoljni rizik	FLT3-ITD+, FLT3-TKD+	Sekundarna AML nakon kemo-/radioterapije; AML s karakteristikama MDS ³
	Svi bolesnici, i ako je GO nedostupan	GO dostupan ⁷ : CBF-AML; NPM1+FLT3 ⁻²				
Indukcija 1-2⁸	3+7	3+7+GO ⁷ (2. ind. bez GO)	3+7	3+7	3+7 +midostaurin	CPX-351 ⁶
Konsolidacija⁸	IDAC 4 ciklusa	IDAC+GO ⁷ 1-2. ciklus, IDAC 3-4. ciklus ⁴	IDAC 1-2 ⁵ ciklusa	IDAC 1-2 ⁵ ciklusa	IDAC 1-2 ⁵ ciklusa	CPX-351 ⁶
TKMS⁹	Ne, osim: (i) u slučaju pozitivne MRD – alogenična; (ii) moguće autologna ako je MRD negativna	Ne, osim: u slučaju pozitivne MRD – alogenična	Alogenična, a u slučaju negativne MRD moguće autologna	Alogenična	Alogenična, uz održavanje midostaurinom ili sorafenibom uz pozitivnu MRD	Alogenična, u slučaju molekularne progresije/relapsa

1. procjena prema Sorrowu (6), 2. dob <65 godina, 3. dob ≥60 godina, 4. u slučaju pozitivne MRD bez GO, 5. do vremena pronalaska darivatelja, 6. nije na listi HZZO, ako nije dostupno liječiti kao nepovoljni rizik, 7. nije na listi HZZO, 8. dodatno vidjeti tablicu 4, 9. dodatno vidjeti tablicu 6.

Tablica 4. Kemoterapijske sheme za liječenje novodijagnosticirane AML.

Uvodna terapija
<ul style="list-style-type: none"> • Score 0-4 prema Sorrowu Indukcija „3+7“: citarabin 200 mg/m²/24h D1-D7, daunorubicin 60 mg/m²/15 min D1-D3 ili idarubicin 12 mg/m² D1-D3 ili mitoksantron 10 mg/m² D1-D3 • Score 5-9 prema Sorrowu (prema procjeni nadležnog hematologa) Indukcija „3+7“: citarabin 100-200 mg/m²/24h D1-7, daunorubicin 45-60 mg/m²/15 min D1-3, ili idarubicin 10-12 mg/m² D1-3, ili mitoksantron 8-10 mg/m² D1-3 • FLT3 ITD ili TKD+ midostaurin u kombinaciji s uvodnom terapijom 2x 50 mg po D8-D21 • CBF-AML* – u bolesnika koji su CD33+ - Gemtuzumab ozogamicin (GO) 3mg/m² (do max. 5 mg) D 1,4,7 uvodne terapije + standardni „3+7“; drugi indukcijski ciklus bez GO! • Bolesnici <65 godina s non-CBF AML niskog rizika (mut. NPM1+FLT3-) s CD33+AML također su kandidati za dodatak GO
Konsolidacija
<ul style="list-style-type: none"> • Mladi bolesnici do 65 – srednje visoke doze citarabina - IDAC (citarabin 1500 mg/ m² iv kroz 3 h svakih 12h, D1-3; ili 1500 mg/m² iv kroz 3 h D1-6) • Stariji bolesnici >65 g. – srednje visoke doze citarabina – IDAC (citarabin 1000 mg/ m² iv kroz 3 h svakih 12h, D1-3; ili 1000 mg/m² iv kroz 3 h D1-6) • Bolesnici s AML flt 3+ – srednje visoke doze citarabina - IDAC (citarabin 1500 mg/ m² iv (ili 1000 mg/ m² >65 g.) kroz 3h D1-6 ili D1,3,5 svakih 12h + midostaurin 2x50 mg po D8-D21. Terapija održavanja midostaurinom (prema odobrenju HZZOa) • CBF AML i NPM1+FLT3-: GO 3 mg/m² (do max. 5 mg) GO D1 u prvom i drugom konsolidacijskom ciklusu, uz citarabin 1000 mg svakih 12h D1-4 i daunorubicin 60 mg/ m² D1 u prvom konsolidacijskom ciklusu te D1-2 u drugom konsolidacijskom ciklusu, uz obavezno praćenje MRD, ako je pozitivna izostaviti GO

Tablica 5. Procjena odgovora nakon indukcijske terapije i preporučeni postupci ovisno o odgovoru.

Procjena odgovora nakon uvedne terapije 1
<p>1. Citološka punkcija koštane srži D21 (samo citologija):</p> <ul style="list-style-type: none"> • <5% blasta – ponoviti na D28 radi potvrde KR* • >5% blasta (perzistiranje blasta) <ul style="list-style-type: none"> • kod značajnog smanjenja blasta za >50% (na 5-25%) primijeniti drugi ciklus uvedne terapije – isti kao prvi (bolesnici koji su u 1. ciklusu primili GO, drugi ciklus uvedne terapije bez GO) • >25% blasta – srednje visoke doze citarabina – citarabin 500-1500 mg/m² svakih 12h D1-6 +antraciklin koji nije primijenjen u prvom ciklusu: idarubicin 8-10 mg D 3-5 ili daunorubicin 45-60 mg D 1-3. D • progresija – th. za R/R AML • hipoplazija: pričekati oporavak i ponoviti punkciju • graničan nalaz – ponoviti za 5-7 dana • TP53+ bolesnici – nastaviti terapiju decitabinom 20 mg/m² D1-10 u ciklusima po 28 dana +venetoclax
Procjena odgovora nakon uvedne terapije 2
<ul style="list-style-type: none"> • morfološki značajna rezidualna bolest bez hipocelularne KS : terapija za R/R AML (>50% bl. u odnosu na ranije) • značajna citoredukcija s niskim % rezidualnih blasta – pričekati oporavak i ponoviti punkciju • hipoplazija – pričekati oporavak i ponoviti punkciju • kompletna remisija (KR) – postremisijska terapija

*KR kompletna remisija

Tablica 6. Indikacije za transplantaciju krvotvornih matičnih stanica.

Bolesnici u prvoj kompletnoj remisiji
<p>1. Pacijenti s povoljnom prognozom prema ELN 2017 kriterijima:</p> <ul style="list-style-type: none"> • trebaju biti razmotreni za autolognu transplantaciju KMS u prvoj kompletnoj molekularnoj remisiji ako nisu liječeni gemtuzumab-ozogamicinom, a u prikupljenom transplantatu se ne detektira biljeg bolesti; • ako ne postignu molekularnu remisiju nakon drugog ciklusa kemoterapije trebaju biti upućeni na alogeničnu transplantaciju; • ako im za postizanje citološke remisije treba više od dva ciklusa indukcije trebaju biti razmotreni za alogeničnu transplantaciju KMS.
<p>2. Bolesnici s intermedijarnom prognozom prema ELN 2017 kriterijima:</p> <ul style="list-style-type: none"> • trebaju biti razmotreni za alogeničnu transplantaciju KMS u prvoj kompletnoj remisiji od HLA identičnog srodnog darivatelja ili zadovoljavajuće HLA-podudarnog nesrodnog darivatelja (10/10 ili 9/10). • Prihvatljiva terapijska opcija je učiniti autolognu transplantaciju ako je bolesnik MRD negativan.
<p>3. Bolesnici s nepovoljnom prognozom prema ELN 2017 kriterijima:</p> <ul style="list-style-type: none"> • trebaju biti razmotreni za alogeničnu transplantaciju u prvoj kompletnoj remisiji od HLA podudarnog srodnog, zadovoljavajuće HLA-podudarnog nesrodnog darivatelja ili haploidentičnog darivatelja.
Bolesnici u drugoj kompletnoj remisiji
<p>Bez obzira na rizik prema ELN trebaju biti razmotreni za alogeničnu transplantaciju od HLA-podudarnog srodnog, zadovoljavajuće HLA-podudarnog nesrodnog darivatelja ili haploidentičnog darivatelja. Autologna transplantacija se u ovom slučaju ne preporučuje.</p>
Bolesnici koji nisu u remisiji
<p>Ako se prethodnim terapijama ne uspije bolesnika uvesti u kompletnu remisiju, može se razmotriti alogenična transplantacija uz sekvencijsko kondicioniranje ako postoji podoban i dostupan HLA-podudarni srodni, zadovoljavajuće HLA-podudarni nesrodni ili haploidentični darivatelj, ako se procijeni da je bolesnik podoban za liječenje transplantacijom te ako bolest nije visoko-proliferativna (nema ubrzane proliferacije blasta u perifernoj krvi bolesnika). Autologna transplantacija se u ovom slučaju ne preporučuje.</p>

Literatura:

1. Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Dombret H, Ebert BL, Fenaux P, Larson RA, Levine RL, Lo-Coco F, Naoe T, Niederwieser D, Ossenkoppele GJ, Sanz M, Sierra J, Tallman MS, Tien H-F, Wei AH, Löwenberg B, Bloomfield CD. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood* 2017;129(4):424-447.
2. Heuser M, Ofran Y, Boissel N, Brunet Mauri S, Craddock C, Janssen J, Wierzbowska A, Buske C. Acute myeloid leukaemia in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.02.018>.
3. NCCN Guidelines Acute Myeloid Leukemia, Version 2.2019
4. Mikulić M, Serventi Seiwert R. Protokol „CLAG“ za liječenje odraslih bolesnika s refraktornom i relapsnom akutnom mijeloičnom leukemijom – R/R AML – prijedlog KroHem-ove Radne skupine za akutne leukemije. *Bilten Krohema* 2019;11(1):8-10.
5. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, Bloomfield CD, Cazzola M, Vardiman JW. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-2405.
6. Sorror ML, Storer BE, Fathi AT, Gerds AT, Medeiros BC, Shami P, Brunner AM, Sekeres MA, Mukherjee S, Peña E, Elsayy M, Wardyn S, Whitten J, Moore R, Becker PS, McCune JS, Appelbaum FR, Estey EH. Development and Validation of a Novel Acute Myeloid Leukemia–Composite Model to Estimate Risks of Mortality. *JAMA Oncol* 2017;3(12):1675-1682.
7. Sorror ML, Sandmaier BM, Storer BE, Maris MB, Baron F, Maloney DG, Scott BL, Deeg HJ, Appelbaum FR, Storb R. Comorbidity and Disease Status–Based Risk Stratification of Outcomes Among Patients With Acute Myeloid Leukemia or Myelodysplasia Receiving Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *JCO* 2007; 25:4246-4254.

Smjernice za liječenje bolesnika s novodijagnosticiranom akutnom mijeloidnom leukemijom koji nisu podobni za liječenje intenzivnim oblicima liječenja

Pavle Rončević¹, Mirta Mikulić¹, Željko Prka², Nadira Duraković¹, Alen Ostojić¹, Delfa Krišto-Radić³, Lana Desnica¹, Zinaida Perić¹, Dubravka Čaržavec⁴, Dubravka Sertić¹, Dominik Lozić⁵, Viktor Blaslov⁵, Božana Coha⁶, Hrvoje Holik⁶, Ivan Krečak⁷, Dragana Grohovac⁸, Vlatka Periša⁹, Radovan Vrhovac¹, Ranka Serventi-Seiwerth¹

¹ KBC Zagreb

² KB Dubrava

³ KB Merkur

⁴ KBC Sestre milosrdnice

⁵ KBC Split

⁶ OB „Dr. Josip Benčević” Slavonski Brod

⁷ OB Šibenik

⁸ KBC Rijeka

⁹ KBC Osijek

1. Uvod

Akutna mijeloidna leukemija (AML) klonalni je poremećaj koji nastaje na razini mijeloidnog progenitora. Incidencije je oko 2-4 slučaja na 100 000 stanovnika s medijanom dobi kod dijagnoze od 68 godina (1). S obzirom na navedeno, znatan broj bolesnika neće biti podoban za liječenje intenzivnom kemoterapijom kao niti transplantacijom alogeničnih matičnih stanica (što je okosnica liječenja mlađih pacijenata to jest onih koji mogu podnijeti intenzivno liječenje). Dosadašnja terapija za navedene pacijente uključivala je manje intenzivne oblike liječenja, na primjer primjenu hipometilirajućih agenasa (HMA) (2), tioguanina, merkaptopurina, hidroksiureje, te najbolje potporne terapije (eng. *best supportive care*, BSC). Međutim, sukladno rezultatima VIALE studija u kojima je venetoklaks (VCLX) pridodan HMA, odnosno niskim dozama citarabina (3,4), Radna skupina za liječenje akutnih leukemija KroHema donijela je nove smjernice za liječenje bolesnika nepodobnih za liječenje intenzivnom kemoterapijom. Smjernice su rađene po uzoru na smjernice ESMO-a (5), NCCN-a (6) te ELN-a (7). Sadrže lijekove koji nisu na listi lijekova HZZO-a, dok su neki lijekovi spomenuti u indikacijama koje još nemaju potvrdu EMA-e. Smjernice su objavljene na mrežnim stranicama KroHema.

2. Dijagnoza

Dijagnoza AML-a se postavlja prema kriterijima Svjetske zdravstvene organizacije 2016 (8) uz uobičajenu analizu citologije, imunofenotipizacije, citogenetike, FISH-a, molekularne dijagnostike te “next generation sequencinga” (NGS) (ako je dostupno).

Budući da se uglavnom radi o starijoj populaciji, hitnoća kod započinjanja liječenja je rjeđe prisutna, te je moguće prikupiti sve nalaze prije početka liječenja.

3. Liječenje

Nakon postavljanja dijagnoze AML-a i donošenja odluke da bolesnik nije podoban za intenzivno liječenje (prema nahođenju ordinarijusa upotrebom jednog od alata za procjenu izvedbenog statusa, npr. ECOG (≥ 2) ili Karnofsky ($\leq 70\%$)), može se pristupiti terapiji. Također, ako se bolesnik prezentira s $L > 25 \times 10^9/L$, prva tri dana primjene venetoklaksa bi trebalo provesti u bolničkim uvjetima. Konačno, primjena HMA i VCLX-a bi trebala biti sinkrona.

1. 1. linija liječenja – prethodno neliječeni

- HMA (AZA 75 mg/m² d. 1-7 ili DEC 20 mg/m² d.1-5/10*) + VCLX 400 mg/d 1-28 (3,12)
- Citarabin 20 mg/m² sc d. 1-10 + VCLX 600 mg/d 1-28 (4)
- Citarabin 20 mg s.c. 2x dnevno + glasdegib 100 mg/d (9)

*kod prisustva TP53 mutacije

Liječenje se provodi do izostanka odgovora ili neprihvatljive toksičnosti. Kontrolna evaluacija najkasnije nakon 3. ciklusa liječenja.

2. 1. linija liječenja – započeto liječenje AML-a s HMA-om

- Ako se na primjenu HMA postigne KR bez mjerljive ostatne bolesti (MRD, measurable residual disease): Nastavlja se s primjenom HMA bez dodavanja VCLX-a
- Ako se na primjenu samog HMA **NE** postigne MRD negativna KR: Dodati VCLX 400 mg/d 1-28 uz postojeći HMA

Liječenje se provodi do izostanka odgovora ili neprihvatljive toksičnosti. Kontrolna evaluacija najkasnije nakon 3. ciklusa liječenja s VCLX.

3. 1. linija liječenja – MDS liječen HMA-om u progresiji u AML-u

- VCLX 400 mg/d 1-28 nadodan uz postojeći HMA (10)
- VCLX 400 mg/d 1-28 nadodan uz izmjenu HMA (azacitidin -> decitabin*, decitabin -> azacitidin) (10,12)
- VCLX 600 mg/d 1-28 uz citarabin 20 mg/m² sc/d 1-10
- Citarabin 20 mg sc 2x dnevno + glasdegib 100 mg/d
*samo kod prisustva TP53 mutacije

Liječenje se provodi do izostanka odgovora ili neprihvatljive toksičnosti. Kontrolna evaluacija najkasnije nakon 3. ciklusa liječenja s VCLX-om.

4. 2. linija liječenja – AML prethodno liječena bez postignutog odgovora, bez provedenog liječenja inhibitorom bcl2 proteina

- Ako je inicijalno liječenje provedeno citarabinom:
 - HMA (AZA 75 mg/m² d. 1-7 ili DEC 20 mg/m² d.1-5/10*) + VCLX 400 mg/d 1-28
- Ako je inicijalno liječenje provedeno HMA:
 - Citarabin 20 mg/m² sc d. 1-10 + VCLX 600 mg/d 1-28
 - VCLX 400 mg/d 1-28 nadodan uz postojeći HMA
 - VCLX 400 mg/d 1-28 uz izmjenu HMA (AZA -> DEC*, DEC -> AZA)

*samo kod prisustva TP53 mutacije

Liječenje se nastavlja do izostanka odgovora ili neprihvatljive toksičnosti. Kontrolna evaluacija najkasnije nakon 3. ciklusa liječenja VCLX-a

5. 2. Linija liječenja – AML s FLT3 ITD/TKD mutacijom

- Gilteritinib 120-200 mg dnevno (11)

Liječenje se provodi do izostanka odgovora ili neprihvatljive toksičnosti. Kontrolna evaluacija najkasnije nakon 3. ciklusa liječenja, uz mogućnost provođenja evaluacije nakon 1. ciklusa zbog potrebe eskalacije terapije na 200 mg.

6. 2. linija liječenja – AML s IDH1/2 mutacijom

- IDH1 mutacija: Ivosidenib 500 mg po (13,14)
- IDH 2 mutacija: Enasidenib 100 mg po (15)

Liječenje se provodi do izostanka odgovora ili neprihvatljive toksičnosti

Kontrolna evaluacija nakon 3. ciklusa liječenja.

7. 2. linija liječenja – AML bez odgovora na VCLX

- Ako nema odgovora na HMA+VCLX, prekida se primjena VCLX, a nastavlja se ili HMA (uz izmjenu preparata ako je moguće), ili se provodi liječenje niskim dozama citarabina
- Ako nema odgovora na citarabin + VCLX, prekida se liječenje VCLX, a nastavlja se s primjenom HMA
- Kontrola bolesti tioguaninom i HU, primjena BSC (najbolje potporne terapije, eng. *best supportive care*)

4. Zaključak

Dostupnost novih lijekova nudi nove mogućnosti liječenja grupe pacijenata koja povijesno nije imala mnogo terapijskih opcija. Također smo svjedoci sve brže i preciznije dijagnostike te preciznijeg određi-

vanja stadija bolesti. Nažalost i dalje postoje (i postojeće) financijske i birokratske prepreke koje će trebati uspješno riješiti i “pomiriti” da bi se u potpunosti optimiziralo i racionaliziralo liječenje bolesnika s AML koji nisu podobni za intenzivne oblike liječenja.

Literatura:

- Epidemiology of acute myeloid leukemia: Recent progress and enduring challenges, Shallis et al, *Blood Rev.* 2019 Jul;36:70-87.
- International phase 3 study of azacitidine vs conventional care regimens in older patients with newly diagnosed AML with >30% blasts, Dombret et al, *Blood* (2015) 126 (3): 291–299.
- Azacitidine and Venetoclax in Previously Untreated Acute Myeloid Leukemia, DiNardo et al, *N Engl J Med* 2020;383:617-29.
- Wei AH et al, Venetoclax plus LDAC for newly diagnosed AML ineligible for intensive chemotherapy: a phase 3 randomized placebo-controlled trial, *Blood.* 2020;135: 2137-2145
- Heuser M et al, Acute myeloid leukaemia in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.02.018>.
- NCCN Guidelines Acute Myeloid Leukemia, Version 2.2019.
- Döhner H et al Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood* 2017;129(4):424-447
- The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia, Daniel A. Arber et al., *Blood.* 2016 May 19;127(20):2391-405
- Randomized Comparison of Low Dose Cytarabine With or Without Glasdegib in Patients With Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia or High-Risk Myelodysplastic Syndrome Cortes et al., *Leukemia.* 2019 Feb;33(2):379-389
- Treatment of Higher-Risk Myelodysplastic Syndromes After Failure of Hypomethylating Agents, Rami Kromokji, *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia*, 2015-06-01, Volume 15, Pages S56-S59
- Gilteritinib or Chemotherapy for Relapsed or Refractory FLT3-Mutated AML, Perl et al., *N Engl J Med* 2019; 381:1728-1740
- TP53 and Decitabine in Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes, Welch et al, *N Engl J Med* 2016; 375:2023-2036
- Ivosidenib (AG-120) Induced Durable Remissions and Transfusion Independence in Patients with IDH1-Mutant Untreated AML: Results from a Phase 1 Dose Escalation and Expansion Study, *Blood* (2018) 132 (Supplement 1): 561.
- Durable Remissions with Ivosidenib in IDH1-Mutated Relapsed or Refractory AML, DiNardo et al, *N Engl J Med* 2018; 378:2386-2398
- Enasidenib, an inhibitor of mutant IDH2 proteins, induces durable remissions in older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia, Pollyea et al, *Leukemia*, 33, p. 2575–2584(2019)

Smjernice za dijagnostiku i liječenje policitemije vere

Rajko Kušec^{1,2}, Dubravka Čaržavec³, Ranka Serventi-Sewierth⁴, Jasminka Sinčić Petričević⁵, Davor Galušić⁶, Dragana Grohovac⁷, Marin Kursar⁸, Ivan Krečak⁹, Marko Lucijanić^{1,2}, Marko Martinović⁸, Vlatka Periša⁵, Pavle Rončević⁴ za Radnu skupinu Krohema za Ph-negativne kronične mijeloproliferativne neoplazme

¹ KB Dubrava

² Medicinski fakultet Zagreb

³ KBC Sestre Milosrdnice

⁴ KBC Zagreb

⁵ KBC Osijek

⁶ KBC Split

⁷ KBC Rijeka

⁸ KB Merkur

⁹ OB Šibenik

1. Definicija i obilježja bolesti

Policitemija vera (PV) pripada skupini kroničnih Philadelphia kromosom-negativnih mijeloproliferativnih neoplazmi. Karakterizira je dominantno povišena proliferacija eritrocitne loze, koju katkada prate leukocitoza i trombocitoza. Kod dijela bolesnika (30-40%) prisutna je splenomegalija koja je često znak napredovanja bolesti. Prate ju bol u abdomenu, osjećaj rane sitosti i gubitak tjelesne težine. Bolesnici imaju i značajne druge simptome kao kronični umor, pruritus i noćno znojenje te epizode febriliteta. Etiopatogenetski je moguće dokazati mutaciju V617F u eksonu 14 JAK2 gena u oko 96% ili u eksonu 12 u oko 3% slučajeva (1).

Bolesnici s PV-om imaju 1,6-puta veći rizik smrti nego opća populacija. Najčešće komplikacije u bolesnika s PV-om su vaskularni i tromboembolički događaji te krvarenja. Tromboza je glavni simptom prisutan u do 39% pacijenata pri postavljanju dijagnoze (2,3).

2. Dijagnostika

Osnovi postupci u obradi eritrocitoze su prikazani u Tablici 1. Za dijagnozu policitemije vere potrebno je ispuniti kriterije prema posljednjoj reviziji SZO-a (4) (Tablica 2.).

Tablica 1. Osnovna obrada eritrocitoze.

Anamneza	Glavobolja, akvageni pruritus, eritromelalgija, smetnje vida, tromboembolijski događaji, krvarenja, vaskularni i kardijalni rizici, plućne bolesti, tumorske bolesti i gastrointestinalni simptomi
Laboratorijske pretrage	Kompletna krvna slika s diferencijalnom krvnom slikom, CRP, LDH, feritin, AST, ALT, gGT, AF, bilirubin, mokraćna kiselina

Daljnja klinička obrada	EPO u serumu, plinske analize krvi, UZV abdomena, RTG prsnog koša, EKG, UZV srca.
Pregled koštane srži	Citološki aspirat i biopsija tkiva koštane srži
Molekularna genetika	JAK2 V617F ili JAK2 ekson 12 ili BCR-ABLp210

Tablica 2. Kriteriji za postavljanje dijagnoze prema posljednjoj reviziji SZO.

Veliki kriteriji

1. Hb >165 g/L za muškarce, 160 g/L za žene

ili Hct >49% za muškarce, >48% za žene
ili dokaz povišene mase eritrocita

2. Biopsija tkiva koštane srži pokazuje hipercelularnost za dob s trilinejskom proliferacijom (panmijeloza koja uključuje izraženu eritroidnu, granulocitnu i megakariocitnu proliferaciju s polimorfnim, zrelim megakariocitima (različite veličine)

3. JAK2V617F ili JAK2 ekson 12 mutacija

Mali kriterij

1. Serumski eritropoetin ispod donje granice referentnog intervala

Za dijagnozu PV potrebna su sva tri glavna ili dva glavna i manji kriterij.

3. Liječenje

Ciljevi liječenja su prevencija tromboza i krvarenja koje su češće komplikacije PV-a. Također, terapijski cilj je i kontrolom proliferacije mijelopoeze odložiti nastajanje ili progresiju fibroze u koštanoj srži, te time smanjiti vjerojatnost prelaska u sekundarnu mijelofibrozu.

Prema riziku komplikacija bolesnici se dijele u dvije osnovne skupine: niskog rizika (mlađi od 60

godina, bez kardiovaskularnih rizika ili bolesti kao što su nekontrolirana hipertenzija, dijabetes, hiperlipidemija) i visokog rizika (stariji od 60 godina ili s kardiovaskularnim rizicima).

3.1. Venepunkcija i antiagregacija

Osnovni terapijski postupak za **sve bolesnike** je održavanje gustoće krvi mjereno hematokritom ispod vrijednosti od 45%. Neki autori preporučuju za žene održavati vrijednost hematokrita ispod 42%. (5,6) Ako ne postoji kontraindikacija, bolesnici trebaju primati antiagregaciju acetilsalicilnom kiselinom u dozi 100 mg p.o. dnevno.

3.2. Citoredukcija

Bolesnici visokog rizika trebaju biti liječeni i citoredukcijom. Prva linija liječenja za bolesnike mlađe od 60 godina je pegilirani oblik alfa interferona (peg-IFNa) ili hidroksiurea. Za mlađe bolesnike za koje predviđamo dulje, višegodišnje liječenje preporučuje se liječenje pegiliranim alfa interferonom.

Terapiju pegiliranim alfa interferonom preporučuje se započeti u dozi od 45 mikrograma s.c. tjedno te ju postupno povećavati svaka dva tjedna do najviše 180 mikrograma tjedno, ovisno o terapijskom odgovoru i podnošljivosti. Važno je napomenuti da je za maksimalan terapijski učinak alfa interferona potrebno dulje vrijeme s prvom procjenom nakon 6 mjeseci. Ako je bolesnik kandidat za liječenje, pegilirani alfa interferon se preporučuje započeti u ranoj fazi bolesti.

Učinci pegiliranog alfa interferona u policitemiji veri s progresivnim rastom slezene nisu optimalni. Za liječenje interferonom životna dob nije kritičan čimbenik, a potreban je oprez u pacijenata s autoimunim stanjima, npr. bolesti štitnjače, psihijatrijskim stanjima, posebno u bolesnika koji osjećaju promjene raspoloženja s tendencijom k depresiji.

Hidroksiurea je djelotvorni mijelosupresivni i citoreduktivni lijek koji se dobro podnosi. Ipak, kao citostatik koji inhibira ribonukleotid reduktazu i sintezu DNA, može u dugotrajnom uzimanju imati učinke na mutacijske događaje u stanici. Neke studije opisuju povišenu incidenciju sekundarnih tumora ili leukemija prilikom dugotrajnog uzimanja (7,8), no to nije potvrđeno u drugim studijama (9,10). Češće se vidi sklonost razvitku prekanceroza i karcinoma kože te razvoj perimaleolarnih ili distalnih defekata kože i mekih tkiva potkoljenice (ulcus cruris).

Kandidati za citoreduktivno liječenje mogu postati i bolesnici niskog rizika kod kojih se uoče znači povišene proliferacijske aktivnosti bolesti kao što

su povećana potreba za učestalim venepunkcijama (češće od svaka 3 do 4 mjeseca), porast slezene ili pogoršanje općih simptoma.

3.3. Rezistencija i intolerancija na liječenje

Dio bolesnika u citoreduktivnom liječenju može razviti rezistenciju ili intoleranciju na lijek prve linije liječenja. U prvoj liniji liječenja ordinarijus može zamijeniti lijek prvog izbora za drugi preporučeni lijek prve linije. Za rezistenciju i/ili intoleranciju na hidroksiureu definirani su kriteriji (11,12) (Tablica 3.).

Tablica 3. Definicija rezistencije ili intolerancije na hidroksiureju u pacijenata s PV (14,15).

Nakon 3 mjeseca ≥ 2 gr/d HU, bilo što od sljedećeg:	II/ pri najnižoj dozi HU potrebnoj da se postigne kompletan ili parcijalan ^a odgovor, bilo što od navedenog:	II/ pri bilo kojoj dozi HU:
Potreba za flebotomijom za održati Hct <45% Nekontrolirana mijeloproliferacija, Tr >400x10 ⁹ /L i L >10x10 ⁹ /L Nemogućnost smanjenja masivne ^b splenomegalije za >50%, palpacijom ili uklanjanja simptoma vezanih uz splenomegaliju	Neutrofili <1.0x10 ⁹ /L Tr <100x10 ⁹ /L Hb<100 g/L	Pojava neprihvatljive nehematološke toksičnosti (npr. ulcus cruris, mukokutane manifestacije, gastrointestinalni simptomi, pneumonitis ili povišena temperatura)

U slučaju rezistencije ili intolerancije na hidroksiureu i/ili alfa interferon, u drugoj liniji liječenja se preporučuje nastaviti liječenje ruksolitinitom, inhibitorom tirozin kinaze JAK1/2.

Terapija ruksolitinitom smanjuje potrebu za venepunkcijama, dovodi do smanjenja veličine slezene i ublažava opće simptome bolesti koji narušavaju kvalitetu života. U slučaju pozitivnog odgovora, terapiju ruksolitinitom potrebno je nastaviti do progresije bolesti ili pojave neprihvatljive toksičnosti.

Početna doza ruksolitinita je 20 mg p. o. dnevno s mogućnošću povišenja doze ovisno o laboratorijskom i kliničkom odgovoru.

3.4. Progresija bolesti

U slučaju progresije policitemije vere u sekundarnu mijelofibrozu, koja se najčešće manifestira rastom slezene, padom krvnih brojeva s pojavom anemije i kolagenom fibrozom višeg stupnja te osteosklerozom u koštanoj srži, bolest je potrebno nastaviti liječiti kao primarnu mijelofibrozu, bilo

ruksolitinibom ili drugim dostupnim inhibitorima Janus tirozin kinaze ili uključanjem u kliničke studije. Bolesnici koji progrediraju u sekundarnu mijelofibrozu su kandidati za alogeničnu transplantaciju hematopoetskih matičnih stanica. Transformaciju policitemije vere u sekundarnu akutnu leukemiju treba liječiti protokolima za leukemiju. Kriteriji za terapijski odgovor (13) dati su u Tablici 4.

Tablica 4. Definicija odgovora na liječenje bolesnika s PV.

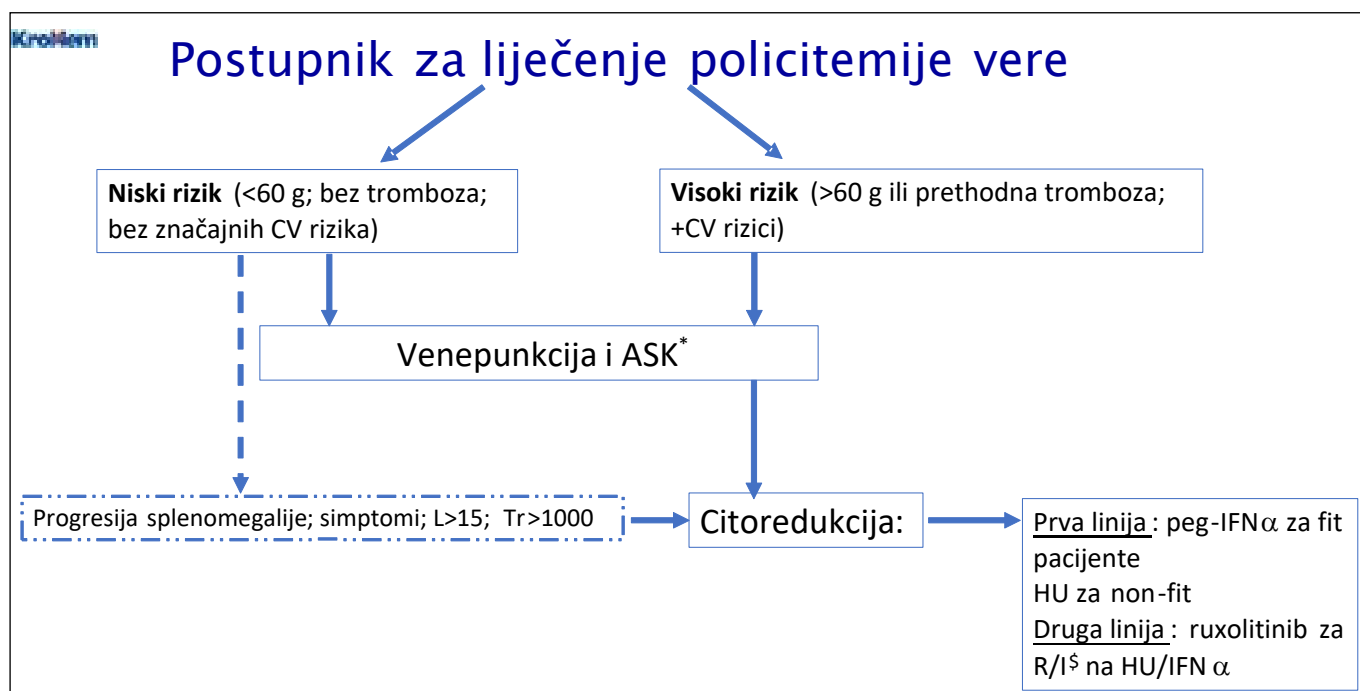
Kriteriji	
Kompletna remisija	
A	Trajan ^a gubitak znakova bolesti što uključuje palpabilnu hepatosplenomegaliju, značajno ublažavanje simptoma ^b i
B	Trajna ^a remisija u krvnim brojevima definirano kao: Hct<45% bez flebotomija, Tr ≤400x10 ⁹ /L, L <10x10 ⁹ /L i
C	Bez progresije bolesti i u odsustvu bilo kojeg hemoragijskog ili trombotičkog događaja i

D	Histološka remisija u koštanoj srži definirana kao normocelularnost za dob i nestanak trilinejske hiperplazije te odsutnost retikulinske fibroze stupnja >1
Parcijalna remisija	Postignuće A, B i C bez histološke remisije u koštanoj srži definirano kao postojanje trilinejske hiperplazije
Molekularni odgovor ^c	Kompletni odgovor: eradikacija prethodno postojeće promjene Parcijalni odgovor ^d : > 50% pada alelnog opterećenja
Bez odgovora	Bilo koji odgovor koji ne zadovoljava parcijalnu remisiju
Progresivna bolest	Transformacija u post-PV MF, MDS ili akutnu leukemiju

a) u trajanju najmanje 12 tjedana; b) značajno poboljšanje simptoma (pad više od 10 bodova prema MPN10 upitniku; c) molekularni odgovor nije nužan za ocjenu kompletnog ili parcijalnog odgovora; potrebna je analiza u granulocitima periferne krvi; d) Parcijalni odgovor vrijedi samo za bolesnike s najmanje 20% mutiranih alela pri dijagnozi.

Sažeti postupnik liječenja policitemije vere prikazan je na Slici 1.

Slika 1.



4. Trudnoća i policitemija vera

Postojanje Philadelphia-negativne klasične MPN povisuje rizik za pobačaj i druge komplikacije u trudnoći. Rizični faktori su ranije komplikacije u prethodnoj trudnoći, a moguće i postojanje JAK2V617F mutacije. U postpartalnom periodu se

mogu dogoditi tromboze, a rizik je veći u pacijentica s ranijom povijesti vaskularnih događaja. Za liječenje su dostupni bilo praćenje, venepunkcija, salicilat, niskomolekularni heparin i pegilirani alfa interferon u slučajevima PV/ET visokog rizika (14,15,16).

Literatura:

1. Levine RL, Pardanani A, Tefferi A, Gilliland DG. Role of JAK2 in the pathogenesis and therapy of myeloproliferative disorders. *Nat Rev Cancer* 2007;7:673–683.
2. Tefferi A, Elliott M. Thrombosis in myeloproliferative disorders: prevalence, prognostic factors, and the role of leukocytes and JAK2V617F. *Semin Thromb Hemost* 2007;33:313–320
3. Iurlo A, Cattaneo D, Bucelli C, Baldini L. New perspectives on polycythemia vera: from diagnosis to therapy. *Int J Mol Sci.* 2020;21:5805.
4. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127:2391-2405.
5. Barbui T, Barosi G, Birgegard G, et al; European LeukemiaNet. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol.* 2011;29:761-770.
6. Vannucchi AM. How I treat polycythemia vera. *Blood* 2014;124:3212–3220.
7. Nielsen I, Hasselbalch HC. Acute leukemia and myelodysplasia in patients with philadelphia chromosome negative chronic myeloproliferative disorder treated with hydroxyurea alone or with hydroxyurea after busulphan. *Am J Hematol* 2003;74:26–31.
8. Kiladjian J-J, Chevret S, Dosquet C, et. al. Treatment of Polycythemia vera with hydroxyurea and Pipobroman: Final Results of a Randomized Trial Initiated in 1980. *J Clin Oncol* 2011;29:3907-3913.
9. Gangat N, Wolanskyj AP, McClure RF, et al: Risk stratification for survival and leukemic transformation in essential thrombocythemia: a single institutional study of 605 patients. *Leukemia* 2007;21:270-276.
10. Voskaridou E, Christoulas D, Bilalis A, et al: The effect of prolonged administration of hydroxyurea on morbidity and mortality in adult patients with sickle cell syndromes: results of a 17-year, single-center trial (LaSHS). *Blood* 2010; 115:2354-2363.
11. Barosi G, Birgegard G, Finazzi G, et al. A unified definition of clinical resistance and intolerance to hydroxycarbamide in polycythaemia vera and primary myelofibrosis: results of a European LeukemiaNet (ELN) consensus process. *Br J Haematol* 2010;148:961–963.
12. Barbui T, Barosi G, Birgegard G, et al. Philadelphia-Negative Classical Myeloproliferative Neoplasms: Critical Concepts and Management Recommendations From European Leukemia Net. *J Clin Oncol* 2011;29:761-770.
13. Barosi G, Mesa R, Finazzi G et al. Revised response criteria for polycythemia vera and essential thrombocythemia: a ELN and IWG-MRT consensus project. *Blood* 2013;121:4778–4781.
14. Griesshammer M, Struve S, Barbui T: Management of Philadelphia negative chronic myeloproliferative disorders in pregnancy. *Blood Rev* 2008;22:235-245.
15. Schrickel L, Heidel F, Sadjadian P, et al. for GSG-MPN. Interferon alpha for essential thrombocythemia during 34 high-risk pregnancies: outcome and safety. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 2020. doi.org/10.1007/s00432-020-03430-4
16. How J, Hobbs G. Use of interferon alfa in the treatment of myeloproliferative neoplasms: perspectives and review of the literature. *Cancers* 2020;12:1954.

Bispecifična protutijela ili kako probuditi vlastite T- stanice ubojice?

Inga Mandac Smoljanović

Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KB Merkur, Zagreb

Uvod

Ne-Hodgkinovi limfomi (NHL) B-fenotipa su biološki vrlo heterogeni indolentni ili agresivni limfoproliferativni poremećaji.

Difuzni B-velikostanični limfom (DLBCL) je agresivni tip limfoma koji, ako se ne liječi, ima medijan preživljenja od 6 mjeseci. Primjena imunokemoterapije i ostalih ciljanih lijekova u liječenju NHL-DLBCL dovela je do petogodišnjeg preživljenja bolesnika, neovisno o kliničkom stadiju, od 64% (SEER 2021).

Unatoč „uniformnoj“ morfološkoj slici, detaljnija analiza na molekularnoj razini otkriva nam da je DLBCL izrazito heterogena bolest. S obzirom na porijeklo limfomskih stanica, dobro je poznata podjela na GCB (B-limfociti germinativnog centra) i ABC (aktivirani B-limfociti).

Trenutna prva linija liječenja R-CHOP postiže stopu izlječenja od 70 do 80% kod GCB podtipa, dok je kod ABC podtipa postotak značajno niži (40%).

Nedavna analiza mutacija pokazala je preživljenje od 26%, 36%, 65% i 68% ovisno o izražaju MCD, N1, BN2 i EZB mutacija u DLBCL-u, te još preciznije identificira podgrupe u ABC i GCB tipu.

R-CHOP je okosnica liječenja DLBC od 2006. godine, i do danas se nije našao dovoljno dobar partner koji bi značajno pomaknuo granice PFS-a i OS-a, a bez dodatne toksičnosti.

Pokušano je s lijekovima koji djeluju preko B-staničnog receptora (ibrutinib), inhibitora PDL1 gena (atezolizumab, durvalumab eventualno kod „double“ ili „triple hit“ DLBCL). Terapija održavanja rituksimabom nije donijela nikakav statistički značajan pomak kod bolesnika s DLBCL-om u kompletnoj remisiji nakon R-CHOP-a.

Pitanja koja se postavljaju i u 2021. su vezana uz prognostičke čimbenike kojima možemo predvidjeti ishod liječenja, ali i pronalazak učinkovitih protokola liječenja sa što manjom toksičnosti.

Iako je personalizirana medicina u hematologiji uzela maha, u DLBCL-u još nisu identificirani jednostavni, pouzdani i klinički značajni biomarkeri koji bi čim bolje predviđali ishod liječenja i dali nam mogućnost izbora najboljeg mogućeg protokola liječenja za pojedinog bolesnika.

I u 2021. standardna imunokemoterapija R-CHOP dovest će do izlječenja oko dvije trećine bolesnika, a ostali relapsno/refraktorni bolesnici postali su izazov u istraživanju novih terapijskih mogućnosti.

Zadnjih godina posebna pozornost se pridaje bispecifičnim protutijelima.

Bispecifična protutijela

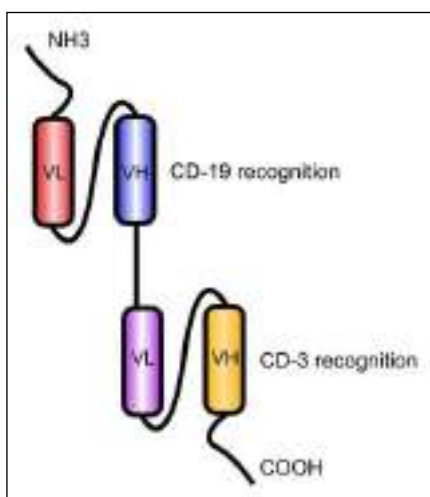
Efektorski T-limfociti su multifunkcionalne stanice imunološkog sustava koje potiču citolizu patogeno inficirajućih stanica i tumorskih stanica.

Tumorske stanice moraju naći dovoljno dobre mehanizme obrane kojima smanjuju utjecaj efektorskih limfocita.

Bispecifična protutijela predstavljaju tumorsku imunoterapiju u kojoj aktiviraju ili T-limfocite ili NK-stanice u borbi protiv tumorskih stanica. Kako bi to postigli, moraju imati dio koji je specifičan za prepoznavanje molekule za efektorsku imunološku stanicu na jednoj strani, i tumorski antigen na drugoj strani. Tako privuku efektorsku stanicu (T limfocit ili NK) prema tumorskoj (ciljnoj) stanici i induciraju staničnu smrt.

Otprije nam je poznat mehanizam djelovanja bispecifičnog protutijela blinatumumaba u liječenju relapsno/refraktorne B-ALL, koji s jedne strane prepoznaje T-stanični aktivirajući stanični površinski protein CD3 i B-stanični antigen CD19.

BiTE molekule (engl. Bispecific T-cell engagers) predstavljaju komplekse dva protutijela pri čemu se jedno veže na CD19 tumorske stanice, a drugo na CD3 antigen T-limfocita. U tom CD3/CD19 kompleksu, BiTE približava obje molekule, a aktivirani T-limfociti uništavaju tumorsku stanicu preko perforinima posredovane apoptoze.

Slika 1.

BiTE na CD19

VL: varijabilna regija lakog lanca

VH: varijabilna regija teškog lanca

Preuzeto sa: J Hematol Oncol. 2014; 7: 58.

Bispecifično protutijelo aktivira T-limfocite u bilo kojem odjeljku (periferna krv, koštana srž, limfni čvor, slezena), a potentnost djelovanja BiTE ovisi o koncentraciji lijeka u odjeljku i omjeru B i T limfocita. Aktivirani T-limfociti proliferiraju, ubijaju vezanjem na ciljne antigene B-limfocite, induciraju proizvodnju citokina i na kraju ulaze u proces apoptoze ili prelaze u stanje mirovanja ili „post-aktivne“ stanice.

Naknadno aktivirani T-limfociti mogu ući u proces apoptoze, prijeći u memorijske T-limfocite ili se reaktivirati.

Kad BiTE potakne vezanje T i B limfocita, značajno raste frakcija aktiviranih T-limfocita u perifernoj krvi, osobito u početku primjene lijeka i dok lijek ne postigne vršnu koncentraciju u plazmi. Aktivacija T-limfocita dovodi do deplecije B-limfocita, potom se posljedično smanjuje aktivacija T-limfocita.

Ako je došlo do stvaranja protutijela na BiTE, postupno se zbog snižavanja koncentracije lijeka kroz 10 dana ponovno oporavljaju B-limfociti, i raste omjer B:T limfocita što dovodi do slabijeg terapijskog odgovora i pojave refrakternosti limfoma.

Koristeći rezultate kliničkih studija s blinatumomabom, znanstvenici su proveli dodatne nekliničke studije s novim bispecifičnim protutijelima.

Jedan od njih je mosunetuzumab.

Mosunetuzumab je humanizirano IgG1 bispecifično protutijelo s ciljnim metama/antigenima CD3 i CD20. Svojim imunološkim i antitumorskim odgovorom utječe na dinamiku cirkulirajućih B i T-limfocita u hematopoetskom sustavu.

Mosunetuzumab je visoko potentan u poticanju T-limfocitima posredovane smrti CD20-B limfocita, i smatra se takozvanim „kondicionalnim agonistom“ jer je smrt B-limfocita moguća jedino uz njegovo simultano vezanje na CD20-B limfocita i CD3-T limfocita.

Nisu potrebne antigen prezentirajuće stanice niti raniji T-stanični odgovor za aktivaciju protutijela, i bilo koji T-limfocit neovisno o svojoj klonalnoj specifičnosti, aktivaciji ili diferencijacijskom statusu, može biti aktiviran u prisutnosti protutijela i CD20.

U studiji faze I/II (NCT02500407), mosunetuzumab je pokazao antitumorsku aktivnost i dobru podnošljivost kod relapsno/refraktornih bolesnika s DLBCL.

Uključeno je 270 bolesnika sa relapsno/refraktornim NHL, od kojih je 180 bolesnika pripadalo grupa agresivnog NHL (117 DLBCL). Medijan prethodnih linija liječenja je bio 3 (od 1 do 14), a 5 bolesnika s DLBCL liječeno je prije mosunetuzumaba i s CAR-T staničnom terapijom.

U prvom ciklusu mosunetuzumab je primijenjen uz postupno podizanje doze 1., 8. i 15. dan, a potom fiksna doza 1.dan svakog ciklusa od 21 dan (maksimalno 17 ciklusa). Postupno podizanje doze uvedeno je zbog sindroma otpuštanja citokina (CRS), jer se tim postupnim podizanjem doze značajno smanjio CRS. Ako je nakon 8 ciklusa postignuta KR, mosunetuzumab bi bio prekinut, ako PR ili stabilna bolest, nastavilo bi se do 17. ciklusa.

- U slučaju relapsa kod bolesnika koji su nakon 8. ciklusa postigli KR, ponovno bi se uveo mosunetuzumab uz mogućnost postizanja druge KR.

Od 124 bolesnika s agresivnim NHL, kod 37,1% je postignut ukupni terapijski odgovor, a kod 19,4% kompletna remisija. Kod 70,8% bolesnika s DLBCL, kompletna remisija je održana kroz 16mj nakon završetka liječenja.

Oko 75% bolesnika je u prethodnoj liniji liječenja podvrgnuto CAR-T staničnoj terapiji, a kod 22,2% je uz mosunetuzumab postignuta kompletna remisija.

Kako je unatoč postupnoj eskalaciji intravenski primijenjenog mosunetuzumaba došlo do CRS kod 29% bolesnika (ali samo 1% gradusa 3), u studiji GO29781, primijenjen je potkožni mosunetuzumab. Nije bilo CRS gradusa 3, a za 7 puta je smanjen broj CRS gradusa 2, u odnosu na intravensku primjenu.

Na zadnjem ASH-2021, prikazani su rezultati liječenja mosunetuzumaba u kombinaciji s CHOP u prvoj liniji neliječenih bolesnika s DLBCL (ukupni

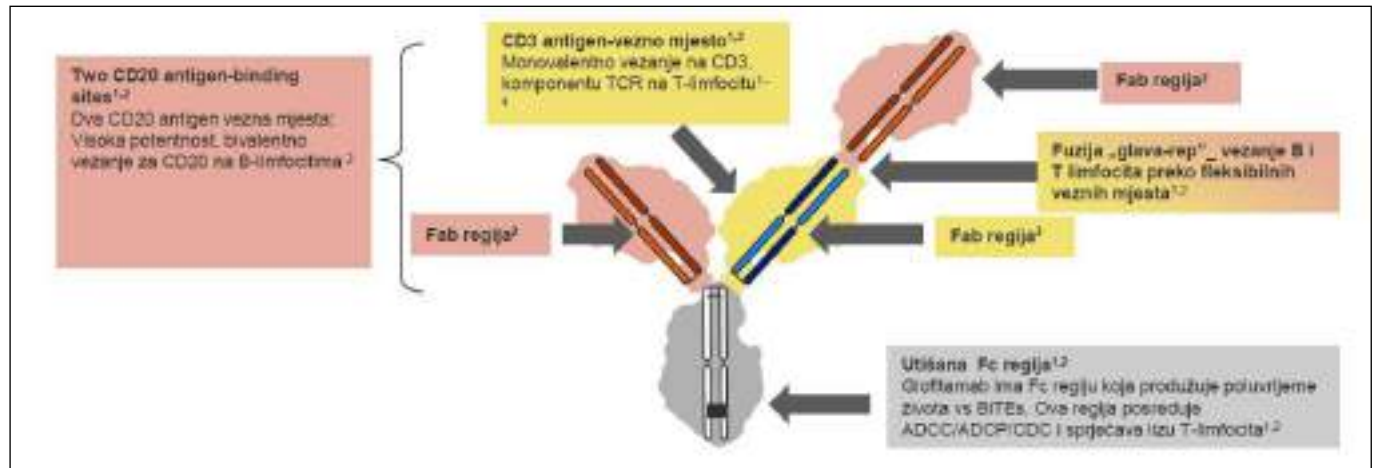
odgovor 96%, kompletna remisija 85,2%).

Glofitamab je humanizirano IgG1 bispecifično protutijelo koje se veže na antigene CD20 i CD3 u 2:1 omjeru (2 CD20 i 1 CD3) i pokazuje veću potentnost in vitro u usporedbi s ostalim CD20/CD3-BiTEovima.

Vežanje CD3 antigena dovodi do aktivacije TCR

kompleksa i posljedične proliferacije T stanica. Stvaranje imunološke sinapse između CD20 i CD3 antigena također dovodi do aktivacije TCR kompleksa i proliferacije T stanica što rezultira smrću B malignog klona. Prisutna je dugotrajna T-stanična aktivacija koja je neovisna o infiltraciji mikrookoliša T-stanicama prije infuzije glofitamaba.

Slika 2. Mehanizam djelovanja glofitamaba.



1. Bacac M, et al. Oncoimmunol 2016;5:e1203498; 2. Bacac M, et al. Clin Cancer Res 2018;24:4785–97
3. Nelson AL. mAbs 2010;77–83; 4. Kontermann RE, Brinkmann U. Drug Discov Today 2015;20:838–47
5. Payandeh Z, et al. Biomed Pharmacother 2019;109:2415–26

Glofitamab se može kombinirati s antiCD20 monoklonskim protutijelima. U kombinaciji s obinutuzumabom, dolazi do aktivacije memorijskih T staničnih efektora, NK stanica.

U kombinaciji s „check-point” inhibitorima-dolazi do ekspanzije PD1+ T stanica i aktivacije memorijskih T-staničnih efektora.

Nekoliko je studija faze I do III u tijeku:

NCT03075696- faza I, r-r NHL, monoterapija glofitumabom ili u kombinaciji s obinutuzumabom; NCT04246086- faza I, r-r FL, kombinacija glofitumaba s lenalidomidom ili obinutuzumabom; NCT03533283- faza I, r-r NHL, kombinacija glofitumaba s polatuzumab vedotinom ili atezolizumabom; NCT04313608- faza I, r-r DLBCL, globifutumab+GemOx; NCT04408638- faza III, r-r DLBCL, glofitumab+Gem-Ox vs. R-Gem-Ox; NCT03467373-faza I, r-rNHL, 1 linija DLBCL, glofitumab+R-CHOP21.

U GO29781 faza I, r-r NHL, koja je uključila 218 bolesnika, opisane su neurološke toksičnosti: glavobolja (14.7%), nesanic (10.1%), vrtoglavica (9.2%)

Sindrom otpuštanja citokina kod 28.4%: gradus I (21.1%), gradus 2 (6%), tri slučaja gradusa III.

U GO40554- fazi I/II, 1. linija terapije DLBCL-a u starijih osoba koje su „ unfit” za klasičnu imuno-

kemoterapiju, uključeno je 19 bolesnika. Kod 68% uočene se nuspojave gradusa I, kod 37% gradusa III/IV. Sindrom otpuštanja citokina opisan je kod 47% bolesnika, svi gradus I.

Zaključak

Tumorski mikrookoliš ima važnu ulogu u odgovoru na BiTE. Naime, ne događa se samo aktivacija efektorskih T-limfocita preko CD3-kompleksa, nego dolazi i do porasta regulatornih T-limfocita (Treg) za koje je poznato da mogu biti prediktori rezistencije na terapiju.

Naučili smo iz studija s blinatumomabom da se aktiviraju Treg koji suprimiraju proliferaciju efektorskih T-limfocita i tako smanjuju terapijski odgovor na blinatumomab.

Ako je bolesnik u prethodnim linijama liječenja proveo autolognu transplantaciju perifernih matičnih stanica, postoji li utjecaj samog postupka na populaciju T-limfocita?

Nedavna studija koja je analizirala bolesnike s multiplim mijelomom, pokazala je da nakon autologne SCT treba pričekati najmanje 3 mjeseca prije CAR-T stanične terapije, ako se radi afereza T-limfocita bolesnika.

Znači li to da, ako se nakon autologne transplan-

tacije DLBCL-a reevaluacijom utvrdi relaps/refrakternost limfoma, treba pričekati najmanje 3 mjeseca od nastavka liječenja CAR-T ili bispecifičnim protutijelima? Što je s primjenom bendamustina u liječenju DLBCL-a i njegovim učinkom na T-limfocite prije primjene bispecifičnih protutijela ili CAR-T stanične terapije?

Mnogo je pitanja ispred nas, rezultati studija sa bispecifičnim protutijelima koje su trenutno u tijeku, dat će dio odgovora.

Desetljećima smo koristili lijekove „izvana“ u borbi protiv malignih hematoloških poremećaja, sadašnjost i budućnost liječenja okreću se prema izvlačenju maksimuma iz naših vlastitih obrambenih imunoloških mehanizama i djelovanju protiv tumorskih stanica „iznutra“.

Literatura:

- Liu Y, Barta SK. Diffuse large B-cell lymphoma: 2019 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol*. 2019;94(5):604-616. doi:10.1002/ajh.25460
- Diffuse large B-cell lymphoma. Lymphoma Research Foundation. Accessed <https://lymphoma.org/aboutlymphoma/nhl/dlbcl/>
- Cancer stat facts: NHL – diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). National Cancer Institute. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/dlbcl.html>
- Lacy SE, Barrans SL, Beer PA et al. Targeted sequencing in DLBCL, molecular subtypes, and outcomes: A Haematological Malignancy Research Network report. *Blood* 2020;135:1759–1771.
- Coiffier B, Lepage E, Briere J, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2002;346(4):235-242. doi:10.1056/NEJMoa011795
- Christian Klein, Candice Jamois & Tina Nielsen (2021) Anti-CD20 treatment for B-cell malignancies: current status and future directions, *Expert Opinion on Biological Therapy*, 21:2, 161-181, DOI: 10.1080/14712598.2020.1822318
- Lejeune M, Köse MC, Duray E, Einsele H, Beguin Y, Caers J. Bispecific, T-Cell-Recruiting Antibodies in B-Cell Malignancies. *Front Immunol*. 2020 May 7;11:762. doi: 10.3389/fimmu.2020.00762. PMID: 32457743; PMCID: PMC7221185.
- Hosseini, I., Gadkar, K., Stefanich, E. et al. Mitigating the risk of cytokine release syndrome in a Phase I trial of CD20/CD3 bispecific antibody mosunetuzumab in NHL: impact of translational system modeling. *npj Syst Biol Appl* 6, 28 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41540-020-00145-7>
- Wang, L., Li, Lr. & Young, K.H. New agents and regimens for diffuse large B cell lymphoma. *J Hematol Oncol* 13, 175 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13045-020-01011-z>
- Zhu, M. et al. Blinatumomab, a bispecific T-cell engager (BiTE®) for CD-19 targeted cancer immunotherapy: clinical pharmacology and its implications. *Clin. Pharmacokinet*. 1271–1288 (2016).
- Christian Klein, Candice Jamois & Tina Nielsen (2021) Anti-CD20 treatment for B-cell malignancies: current status and future directions, *Expert Opinion on Biological Therapy*, 21:2, 161-181, DOI: 10.1080/14712598.2020.1822318
- Stephen J Schuster, Nancy L Bartlett, Sarit Assouline, Sung-Soo Yoon, Francesc Bosch, Laurie H Sehn i sur. Mosunetuzumab Induces Complete Remissions in Poor Prognosis Non-Hodgkin Lymphoma Patients, Including Those Who Are Resistant to or Relapsing After Chimeric Antigen Receptor T-Cell (CAR-T) Therapies, and Is Active in Treatment through Multiple Lines. *Blood* (2019) 134 (Supplement_1): 6. <https://doi.org/10.1182/blood-2019-123742>
- Patrick Greve, Friederike A G Meyer-Wentrup, Victor Peperzak, Marianne Boes, Upcoming immunotherapeutic combinations for B-cell lymphoma, *Immunotherapy Advances*, Volume 1, Issue 1, January 2021, Itab001, <https://doi.org/10.1093/immadv/Itab001>
- Doraiswamy, A., Shah, M.R. & Bannerji, R. Immunotherapies Old and New: Hematopoietic Stem Cell Transplant, Chimeric Antigen Receptor T Cells, and Bispecific Antibodies for the Treatment of Relapsed/Refractory Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Curr Hematol Malig Rep* (2021). <https://doi.org/10.1007/s11899-021-00610-y>
- Hutchings M, et al. Glofitamab Step-Up Dosing Induces High Response Rates in Patients with Hard-to-treat Refractory or Relapsed Non-Hodgkin Lymphoma. Presented at: ASH Annual Meeting and Exposition; 2020 Dec 5-8. Abstract #403.
- Olshewski A, et al. Single-agent Mosunetuzumab is a Promising Safe and Efficacious Chemotherapy-Free Regimen for Elderly/Unfit Patients with Previously Untreated Diffuse Large B cell Lymphoma. Presented at: ASH Annual Meeting and Exposition; 2020 Dec 5-8. Abstract #401.
- Phillips T, et al. Mosunetuzumab, a Novel CD20/CD3 Bispecific Antibody, in Combination with CHOP Confers High response Rates in Patients with DLBCL. Poster presented at: ASH Annual Meeting and Exposition; 2020 Dec 5-8. Abstract #1184.
- Shimabukuro-Vornhagen, A. et al. Cytokine release syndrome. *J. Immunother. Cancer* 6, 56 (2018).
- Maude, S. L., Barrett, D., Teachey, D. T. & Grupp, S. A. Managing cytokine release syndrome associated with novel T cell-engaging therapies. *Cancer J*. 20, 119 (2014)
- Mika, T., Ladigan-Badura, S., Maghnoouj, A., Mustafa, B., Klein-Scory, S., Baraniskin, A., Döhring, S., Fuchs, I., Ehl, S., Hahn, S. A., & Schroers, R. (2020). Altered T-Lymphocyte Biology Following High-Dose Melphalan and Autologous Stem Cell Transplantation With Implications for Adoptive T-Cell Therapy. *Frontiers in oncology*, 10, 568056. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.568056>
- Trabolsi A, Arumov A, Schatz JH. T Cell-Activating Bispecific Antibodies in Cancer Therapy. *J Immunol*. 2019 Aug 1;203(3):585-592. doi: 10.4049/jimmunol.1900496. PMID: 31332079.

Granulocitopenije u djece

Ernest Bilić^{1,2}, Kristijan Lujić², Matej Jelić¹, Daniel Turudić¹

¹ Klinički bolnički centar Zagreb, Klinika za pedijatriju,

Zavod za pedijatrijsku hematologiju, onkologiju i transplantaciju krvotvornih matičnih stanica

² Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Uvod

Neutropenija ili granulocitopenija je stanje smanjene vrijednosti neutrofila (granulocita) u perifernoj krvi. Kod djece, neutropenijom smatramo stanje kada je apsolutni broj neutrofila (ANC- prema engl. Absolute neutrophil count) u krvi manji od $1,5 \times 10^9/L$ (1). Neutropenije se kod djece dijele na blage gdje je ANC $1,0-1,5 \times 10^9/L$, umjerene $0,5-1,0 \times 10^9/L$ te teške kada je ANC ispod $0,5 \times 10^9/L$ (2). Normalna vrijednost ANC-a ovisi o dobi djeteta pa je tako pri rođenju normalno od 6 do $26 \times 10^9/L$, s navršenih tjedan dana od $1,5$ do $10 \times 10^9/L$, a zatim do prve godine života donja granica pada na $1,0 \times 10^9/L$ nakon čega se opet penje na $1,5 \times 10^9/L$ (3). Neutropenija je relativno česta pojava u djece, a kao posljedica mogu se javiti infekcije koje kod tih pacijenata mogu biti bez uobičajenih znakova i simptoma što može stvarati probleme u dijagnostici i pravovremenom prepoznavanju infekcije (1,3). Mukozne membrane, usna šupljina i koža su česta žarišta infekcija, a moguće su i teže sustavne infekcije probavnog i dišnog sustava udružene s bakterijemijom (3).

Samo 3% od ukupnog broja neutrofila u tijelu cirkulira perifernom krvi dok je velika većina u rezervama koštane srži, tkivima te u marginalnom sloju krvnih žila. Dakle, standardnom kompletnom krvnom slikom uzimamo uzorak najmanjeg odjeljka neutrofila te time ne dobivamo stvarnu sliku o sposobnosti tijela za obranu od infekcije (1). Dijagnostiku kod djece s neutropenijom treba započeti dobro uzetom anamnezom i fizikalnim pregledom. Od anamnestičkih podataka bitno je utvrditi postojanost nedavnih ili ponavljajućih febriliteta i infekcija u djeteta te moguću pozitivnu obiteljsku anamnezu na neutropenije (1,2). Prilikom fizikalnog pregleda treba obratiti pozornost na fizikalne dismorfije i abnormalnosti, povećanje abdominalnih organa i limfnih čvorova te dobro pregledati kožu i sluznice (pogotovo usnu šupljinu i perirektalnu regiju) (2,3). Punkcijom koštane srži možemo ocijeniti sazrijevanje granulocita, ali i uočiti infiltraciju, malignu promjenu ili fibrozu koštane srži (2). Nju treba raditi samo kada postoji indikacija za to, a prije nje se obično naprave manje invazivni testovi (3).

Asimptomatski (bez vrućice i znakova infekcije) pacijenti s neutropenijom ne zahtijevaju nikakvu terapiju osim praćenja. S druge strane oni pacijenti koji se očituju vrućicom i infekcijom zahtijevaju liječenje ovisno o težini i trajanju neutropenije kao i o ostalim bolestima i poremećajima u podlozi (2).

Neutropenija može nastati zbog smanjene ili neadekvatne proizvodnje, pretjeranog razaranja ili pomaka neutrofila iz periferije u rezervne bazene (endotel, tkiva) (3). Neutropenije mogu biti prolazne (akutne) i kronične. Prolazne ili akutne neutropenije najčešće su uzrokovane virusnim i bakterijskim infekcijama te lijekovima. Kronične neutropenije su neutropenije s ANC-om $< 1,5 \times 10^9/L$ u trajanju duljem od 3 mjeseca, a dijele se na kongenitalne, autoimunsne i idiopatske (4). Postoje razni uzroci koji mogu dovesti do neutropenije, a mogu se podijeliti u dvije grupe: stečeni i kongenitalni. Stečeni oblici neutropenija znatno su češći (2).

Ciljevi rada

Cilj rada je prikazati zastupljenost pojedine vrste neutropenije i trajanje neutropenije (kada je ANC $< 1,0 \times 10^9/L$). Uz navedeno prikazat će se ishod neutropenije u ovisnosti o spolu i dobi pri kojoj se postavila dijagnoza, najnižoj vrijednosti apsolutnog broja neutrofila (ANC) te učestalost infekcija.

Ispitanici i metode

Ispitanici

U ovaj rad je uključeno 288 djece s postavljenom dijagnozom neutropenije, agranulocitoze ili leukopenije u Zavodu za pedijatrijsku hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju KBC-a Zagreb.

Metode

Prikupljeni su podaci iz medicinske dokumentacije o dobi, spolu, vrijednosti neutrofila pri postavljanju dijagnoze, najnižoj vrijednosti i trajanju neutropenije (ANC $< 1,0 \times 10^9/L$). Podaci o istodobnom postojanju limfopenije, anemije, trombocitopenije, hipogamaglobulinemije, antigranulocitnih protutijela, infekcija prije nastanka i tijekom neutropenije, antibiotske profilakse, lijekova koji bi mogli uzroko-

vati neutropeniju te obiteljske povezanosti.

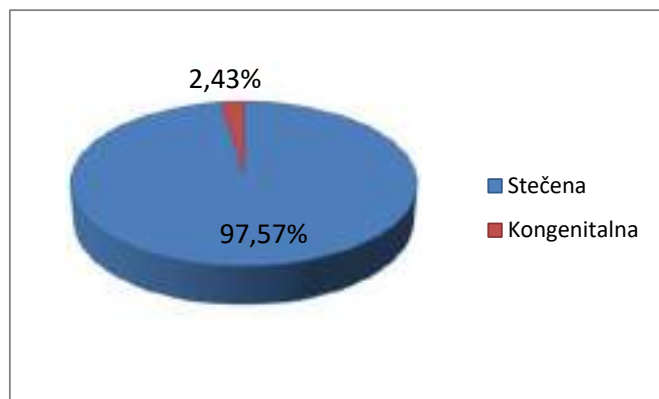
Podaci i raspodjele varijabli su prikazane grafički.

Rezultati

Od ukupno 288 djece uključene u ovo istraživanje, bilo je 149 dječaka (51,74%) i 139 djevojčica (48,26%) U 281 (97,57%) ispitanika se radilo o stečenoj neutropeniji, a u 7 (2,43%) slučajeva o kongenitalnoj neutropeniji (Slika 1). Kod 227 (78,82%) ispitanika je došlo do ozdravljenja, 34 (11,81%) se i dalje prate, a za 27 (9,38%) nije poznat ishod neutropenije (Slika 3). Kod ispitanika s poznatim ishodom neutropenije (isključivo ozdravljenje) prosječno je trajanje neutropenije ($ANC < 1,0 \times 10^9/l$) bilo 6,43 mjeseca. Prosječna dob pri postavljanju dijagnoze je bila 19,6 mjeseci. Trajanje neutropenije smo određivali kao razdoblje u kojem je ANC kod ispitanika bio manji od $1,0 \times 10^9/l$.

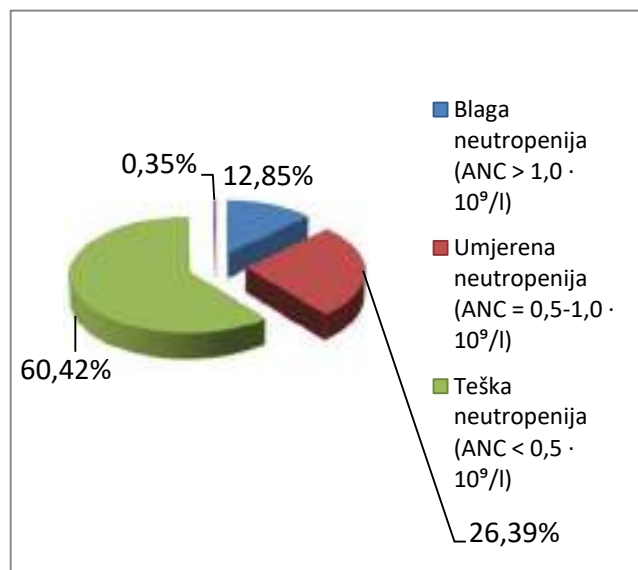
Od 7 (2,43%) ispitanika kod kojih je zabilježena kongenitalna neutropenija njih 3 (1,04%) imalo je tešku kongenitalnu neutropeniju, 2 (0,69%) je imalo cikličku neutropeniju, 1 (0,35%) ispitanik je imao Shwachman-Diamond sindrom, a 1 (0,35%) ispitanik je imao metilmalonsku aciduriju kod koga je neutropenija trajala 12 mjeseci.

Slika 1. Raspodjela obolijevanja prema tipu neutropenije



Iako gruba podjela po težini neutropenije ne govori nužno i o težini bolesti kod ispitanika, pomaže da se dobije slika o različitostima ispitanika u pojedinoj od 3 skupine težine neutropenije.

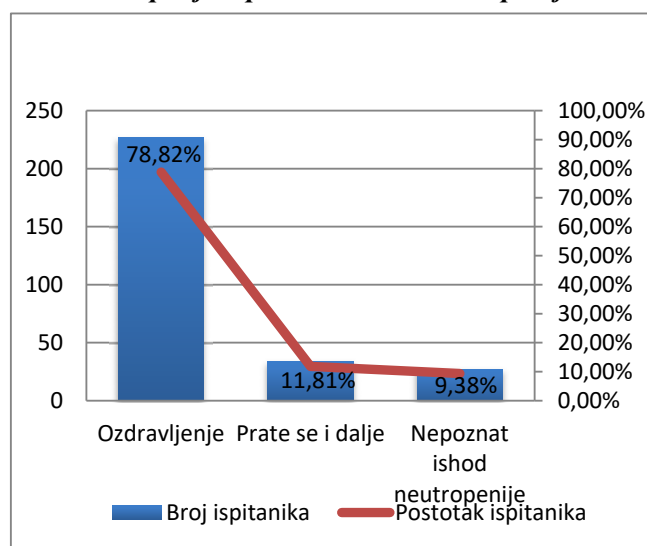
Slika 2. Raspodjela prema najnižoj zabilježenoj vrijednosti ANC-a



Od 288 ispitanika kod njih 227 (78,82%) bio je poznat ishod neutropenije pa su sva računanja koja uključuju trajanje neutropenije izvođena isključivo s podacima tih ispitanika. Među 61 (21,18%) ispitanikom kod koji je nepoznat ishod neutropenije, njih 34 (11,81%) se prate i dalje, kod 14 (4,86%) ispitanika nema daljnjih podataka nakon što su se pratili neko vrijeme, a za njih 13 (4,51%) uopće nema podataka o trajanju i ishodu neutropenije.

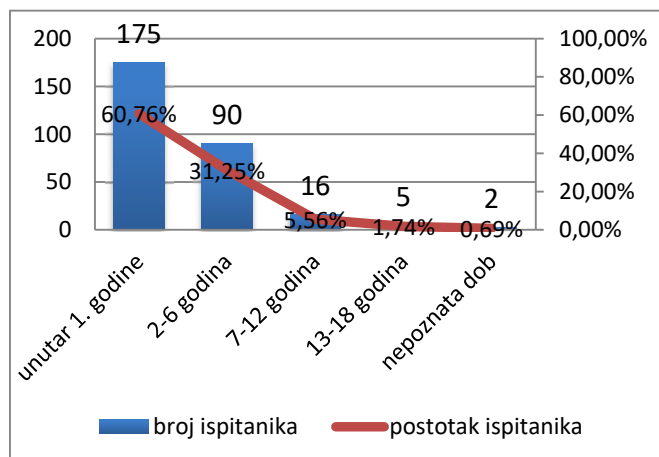
Od 48 ispitanika (34 koji se prate i dalje i 14 kod kojih nema daljnjih podataka) oduzeli smo 6 onih kod kojih je postavljena dijagnoza kongenitalne neutropenije (7. ispitanik s kongenitalnim uzrokom neutropenije je imao neutropeniju ograničenog trajanja tako da nije u ovoj skupini koja se prati i dalje) te smo dobili 42 ispitanika sa stečenom neutropenijom čije je prosječno trajanje neutropenije 25,02 mjeseca.

Slika 3. Raspodjela prema ishodu neutropenije



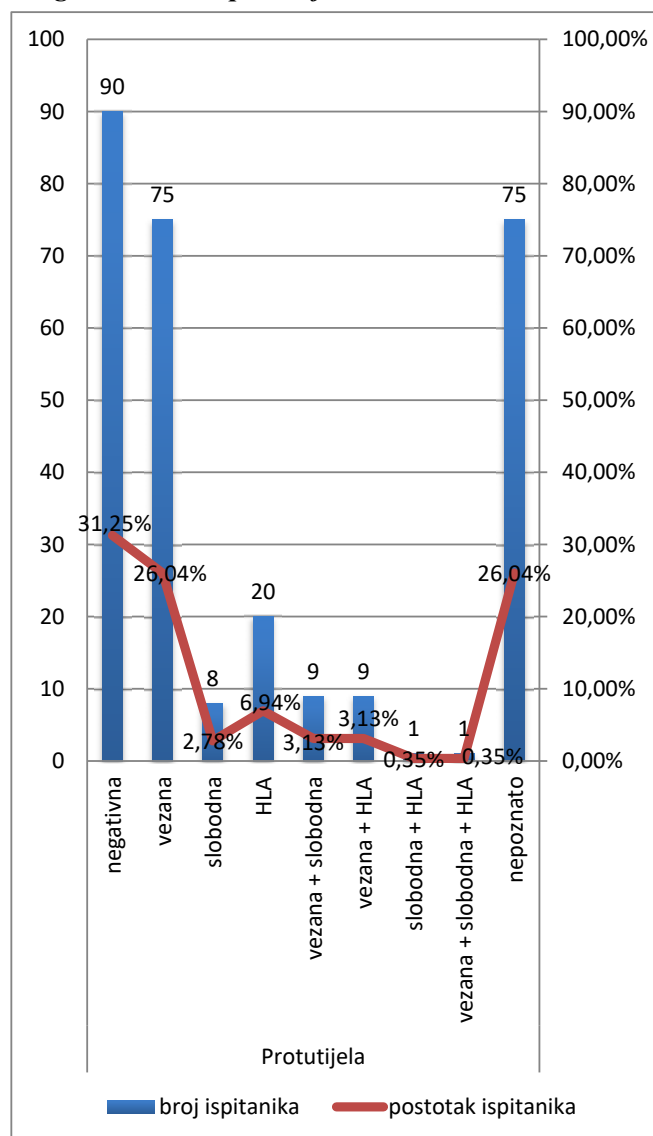
Ispitanici su podijeljeni u 5 dobnih skupina s obzirom na dob u kojoj je postavljena dijagnoza: do 1. godine, od 2. do 6. godine, od 7. do 12. godine, od 13. do 18. godine života te nepoznata dob pri postavljanju dijagnoze.

Slika 4. Raspodjela pojave bolesti po dobnim skupinama

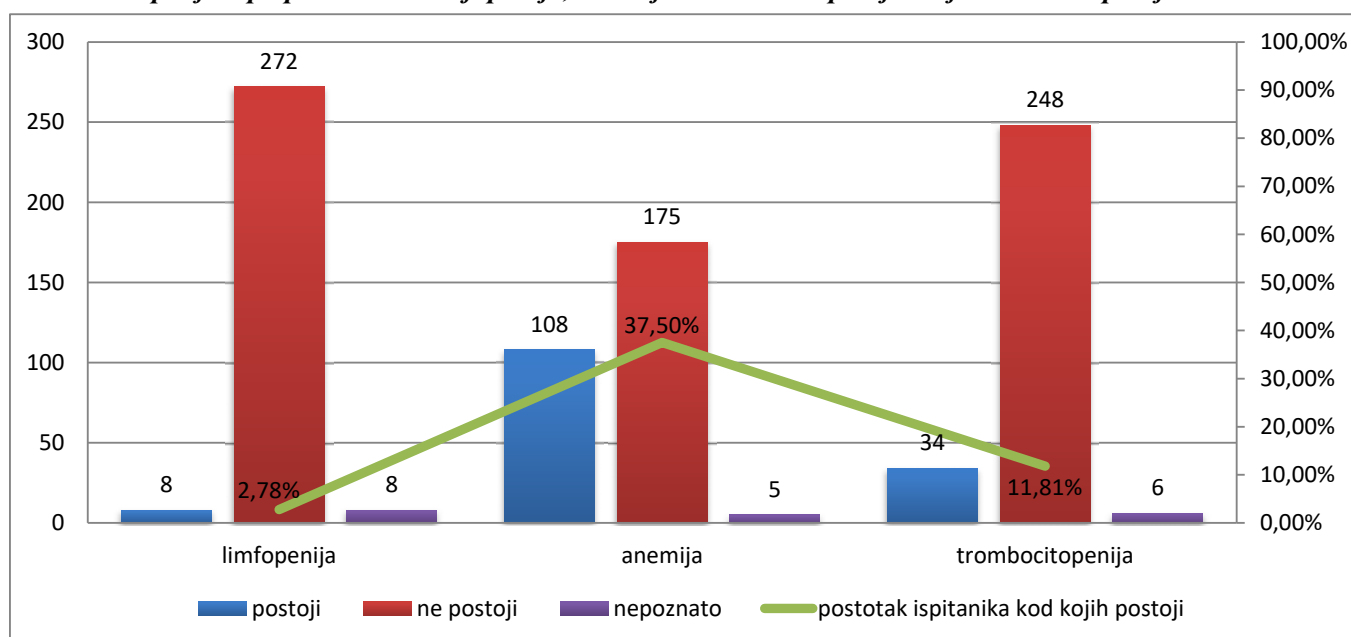


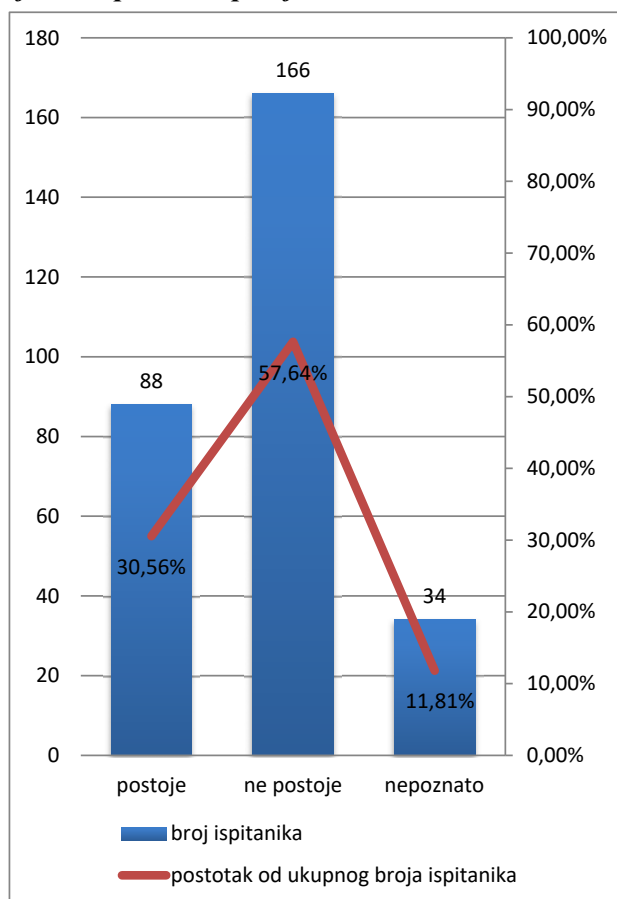
Prema prisutnosti antigranulocitnih protutijela ispitanici su podijeljeni u 9 skupina: negativna, vezana protutijela, slobodna protutijela, HLA protutijela, vezana i slobodna protutijela, vezana i HLA protutijela, slobodna i HLA protutijela, vezana i slobodna i HLA protutijela te nepoznata prisutnost protutijela. Od 213 (73,96%) ispitanika kojima je određena vrijednost antigranulocitnih protutijela kod njih 123 (42,71% od ukupnog broja ispitanika i 57,75% od ukupnog broja testiranih ispitanika) dokazana su protutijela.

Slika 5. Raspodjela ispitanika prema prisutnosti antigranulocitnih protutijela u krvi

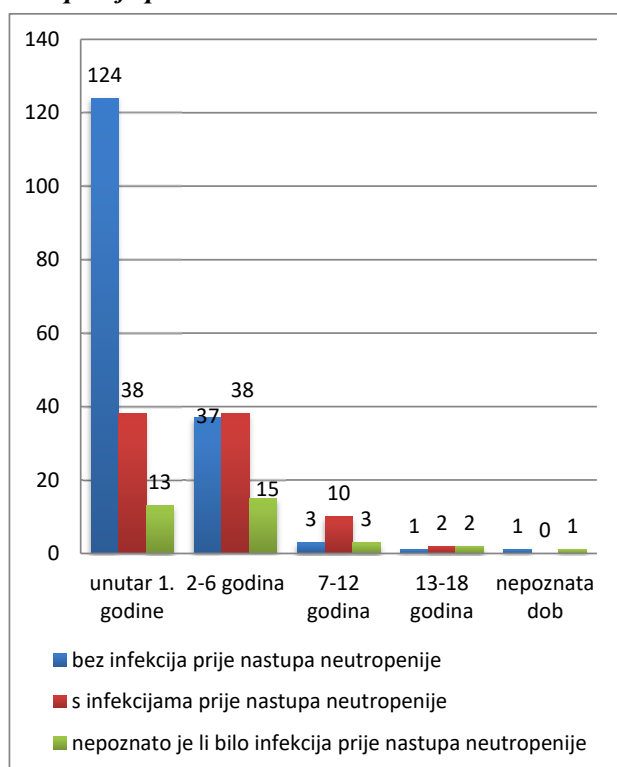
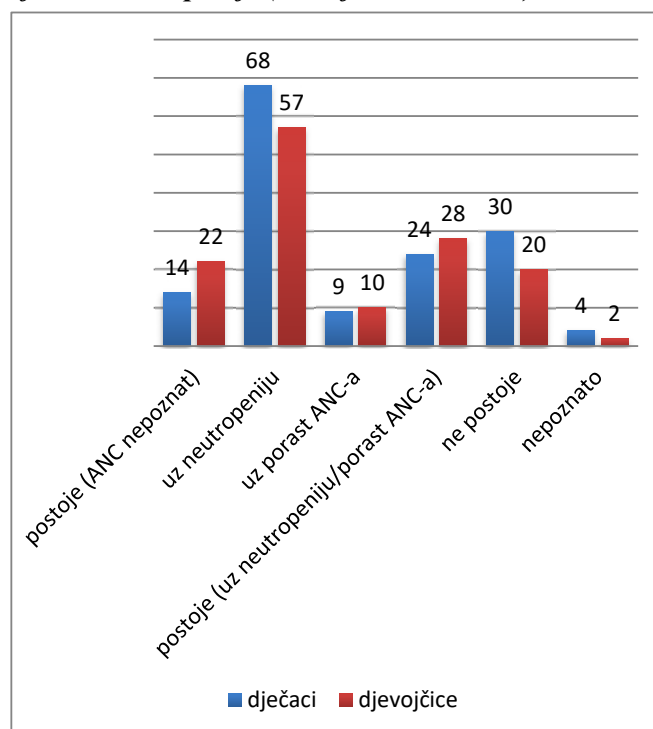


Slika 6. Raspodjela po prisutnosti limfopenije, anemije i trombocitopenije u djece s neutropenijom

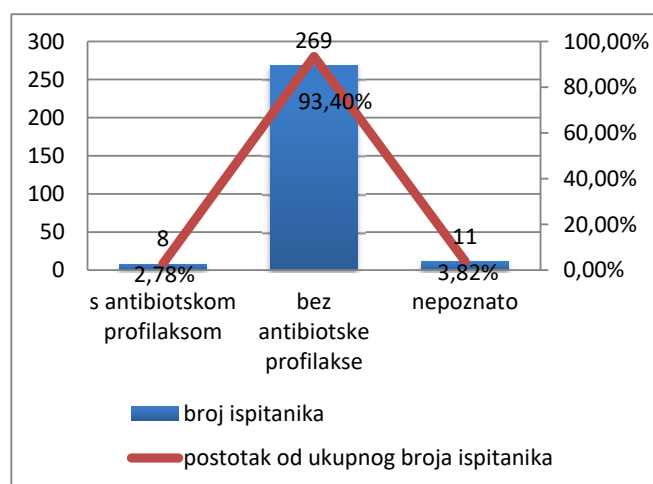


Slika 7. Raspodjela po prisutnosti izoliranih infekcija prije nastupa neutropenije

Sljedeći graf prikazuje raspodjelu prisutnosti infekcija prije nastupa neutropenije po dobi pri postavljanju dijagnoze.

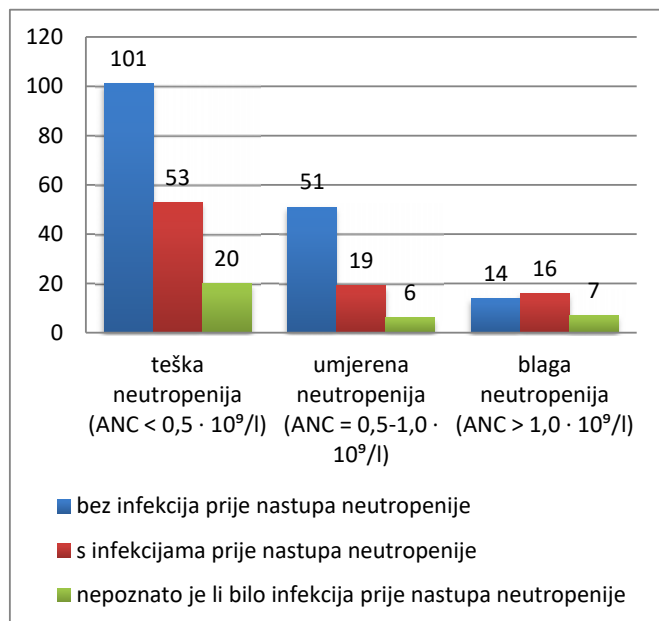
Slika 8. Raspodjela prisutnosti infekcija prije nastupa neutropenije po dobi**Slika 9. Raspodjela spola po prisutnosti infekcija tijekom neutropenije (uz vrijednost ANC-a)**

Od 288 ispitanika samo je kod njih 8 (2,78%) zabilježena terapija antibiotskom profilaksom. Od toga je 6 ispitanika primalo amoksicilin, 1 ispitanica penicilin te 1 ispitanica cefuroksim. Kod 11 (3,82%) ispitanika nije bilo poznato jesu li primali antibiotsku profilaksu. Uroprofilaksu nismo uključivali kao antibiotsku profilaksu za sprječavanje infekcija tijekom neutropenije.

Slika 10. Raspodjela prema profilaktičkoj terapiji antibioticima

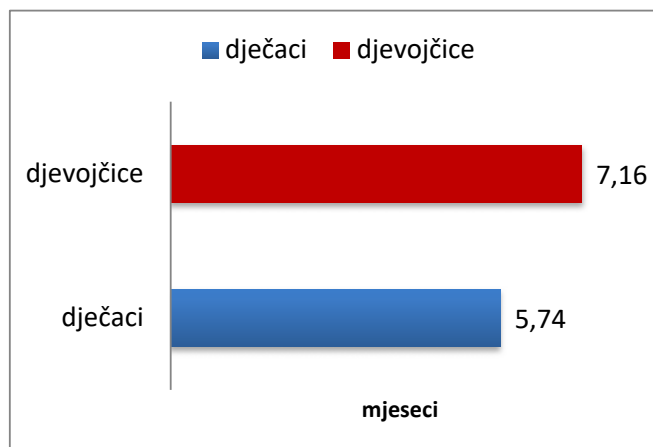
Slika 11. prikazuje raspodjelu prema prisutnosti infekcija prije nastupa neutropenije po skupinama podijeljenima prema najnižem zabilježenom ANC-u (težini neutropenije). 1 ispitanik je imao nepoznatu vrijednost i najnižeg ANC-a i prisutnosti infekcija prije nastupa neutropenije pa nije prikazan na grafu.

Slika 11. Raspodjela po najnižoj zabilježenoj vrijednosti ANC-a i prisutnosti infekcija prije nastupa neutropenije



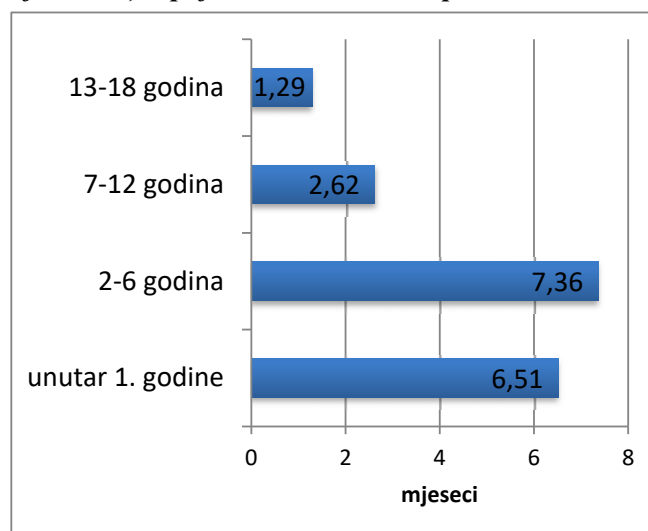
Slika 12. prikazuje prosječno trajanje neutropenije (u mjesecima) po spolu. Na grafu nije prikazan 61 ispitanik kojima je bio nepoznat ishod neutropenije.

Slika 12. Prosječno trajanje neutropenije (u mjesecima) po spolu



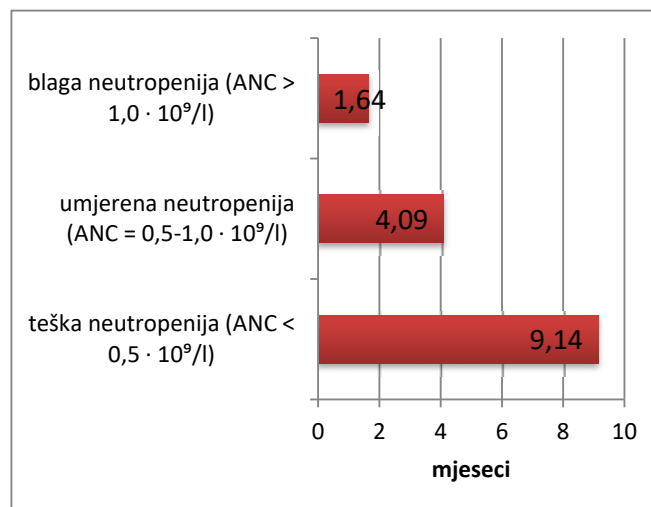
Slika 13. prikazuje prosječno trajanje neutropenije (u mjesecima) po pojedinim dobnim skupinama. Na grafu nisu prikazana 2 ispitanika kojima je nepoznata dob te 61 ispitanik kojima je nepoznat ishod neutropenije.

Slika 13. Prosječno trajanje neutropenije (u mjesecima) u pojedinim dobnim skupinama



Na Slici 14. prikazano je prosječno trajanje neutropenije po skupinama određenima najnižom zabilježenoj vrijednošću ANC-a. Na grafu nije prikazan 61 ispitanik kojima je nepoznat ishod neutropenije kao ni 1 ispitanik kojem je bila nepoznata najniža vrijednost ANC-a.

Slika 14. Prosječno trajanje neutropenije (u mjesecima) po najnižoj zabilježenoj vrijednosti ANC-a



Rasprava

U ovom retrospektivnom radu analizirali smo uzroke, težinu i trajanje neutropenije u 288 djece u dobi od rođenja do navršene 18. godine. Pretražujući literaturu vidljivo je da nema puno radova koji opisuju navedenu problematiku na većem uzorku ispitanika, koji su longitudinalno praćeni.

Neke epidemiološke podatke usporedit ćemo s istraživanjem kojeg su proveli Farruggia i sur (5). U njihovom istraživanju neutropenija je češća u dječaka i u autoimunskim (56,8% dječaka) i u idiopatskim neutropenijama (IN) (50,6% dječaka) dok je dob pri postavljanju dijagnoze u djece s AIN-om

bila 1,1 godina, a u djece IN-om 2 godine. Što se tiče težine neutropenije raspodjela u AIN je bila 55,2% - 37,6% - 7,2% (teške, umjerene, blage), a u IN je bila 60,0% - 29,4% - 10,6% (teške, umjerene, blage). Kroz period od 5 godina zabilježen je oporavak u 87,12% ispitanika s AIN-om i 81,28% ispitanika s IN-om. Među oporavljenom djecom 38,1% djece s AIN-om i 20,6% djece s IN-om je imalo trajanje neutropenije \leq 12 mjeseci. 11,9% djece s AIN-om i 11,8% djece s IN-om je imalo teške infekcije. Prosječno je trajanje bolesti u AIN-i je bilo 1,28 godina, a u IN-i 2,00 godine. Prema tom istraživanju faktori koji pozitivno utječu na ishod neutropenije su ranija dob postavljanja dijagnoze, muški spol, odsutnost leukopenije i monocitoze u AIN-i te dob detekcije neutropenije i odsutnost monocitoze u IN-i.

U našem istraživanju neutropenija je također bila češća u dječaka (51,74% dječaka i 48,26% djevojčica). Dob pri postavljanju dijagnoze iznosila je u prosjeku 19,6 mjeseci (1,63 godina). Raspodjela po težini neutropenije iznosila je 60,42% - 26,39% - 12,85% (teške, umjerene, blage). Među oporavljenom djecom njih 84,58% je imalo trajanje neutropenije \leq 12 mjeseci. Nismo analizirali infekcije po težini nego samo po prisutnosti istih, pa je tako 80,56% djece imalo zabilježenu infekciju tijekom neutropenije. Prosječno trajanje neutropenije je iznosilo 6,43 mjeseca (0,54 godine). Prosječno trajanje neutropenije je bilo kraće kod dječaka te je iznosilo 5,74 mjeseci, a kod djevojčica 7,16 mjeseci. Neutropenija je trajala duže što je najniži zabilježeni ANC bio niži pa je tako trajanje bilo 9,14 - 4,09 - 1,64 mjeseci (teška, umjerena, blaga) za pojedinu težinu neutropenije. Najduže trajanje neutropenije zabilježeno je u dobnoj skupini 2-6 godina, a trajanje po dobnim skupinama je iznosilo 6,51 - 7,36 - 2,62 - 1,29 mjeseci (unutar 1. godine, 2-6 godina, 7-12 godina, 13-18 godina). Gledajući infekcije prije nastupa neutropenije, ispitanici koji su imali zabilježene infekcije prije nastupa neutropenije imali su kraće trajanje neutropenije (6,30 mjeseci) za razliku od pacijenata bez zabilježenih infekcija prije nastupa neutropenije (7,03 mjeseci). Nasuprot tome, pacijenti bez zabilježenih infekcija tijekom neutropenije imali su kraće prosječno trajanje bolesti u iznosu od 4,89 mjeseci, dok su ispitanici sa zabilježenim infekcijama tijekom neutropenije imali prosječno trajanje neutropenije 7,73 - 5,09 - 6,19 - 9,29 (uz neutropeniju i porast ANC-a, uz porast ANC-a, uz neutropeniju, bez poznatog ANC-a).

Prema longitudinalnom istraživanju kojeg su proveli C.L. Andersen i sur. (6) na rutinski uzetim nalazima kompletne krvne slike od 373 820 dobi

1-90 godina, njih 7871 bilo je neutropenično od čega je njih 94% imalo akutnu neutropeniju, a 6% kroničnu neutropeniju. U našem istraživanju akutne neutropenije činile su 56,25% ispitanika, a kronične 39,24% (4,51% imalo je nepoznato trajanje neutropenije). Treba uzeti u obzir da je naše istraživanje rađeno isključivo na populaciji djece (0-18 godina).

Uzimajući u obzir raspodjelu po spolu, težini neutropenije, trajanju neutropenije i dobi pri postavljanju dijagnoze rezultati naše retrospektivne analize podudaraju se s podacima iz literature. A to znači da je neutropenija kod djece, a posebice u mlađoj dječjoj dobi (do 7 godine života) relativno benigna, ne dovodi do težih komplikacija i uglavnom spontano prolazi uz tek povremene potrebe za terapijskom intervencijom. Djeca s teškom neutropenijom ($<0,5 \times 10^9/l$) bi trebala biti i pod ekspozicijskom profilaksom, tj. izbjegavati dodire s većim skupinama djece i s bolesnima.

Zaključak

Djeca, posebice u prvih sedam godina imaju fiziološki manje apsolutne vrijednosti neutrofila od odraslih osoba. Neutropenije su česta pojava u djetinjstvu i uglavnom su stečene. Većina neutropenija spontano prolazi bez ikakve terapije. Takvu djecu ne bi trebalo voditi u dječje kolektive, a u slučaju infekcija i pri sumnji na bakterijsku etiologiju, odmah ordinirati antibiotik. Profilaktičko davanje antibiotika nije potrebno, a mogu se cijepiti svim cjepivima kao i njihovi zdravi vršnjaci.

Literatura:

1. Dale DC. How I manage children with neutropenia. Br J Haematol. 2017;178(3):351-63.
2. Hastings CA, Torkildson JC, Agrawal AK. Handbook of Pediatric Hematology and Oncology: Children's Hospital & Research Center Oakland. 2nd ed. Chichester: John Wiley & Sons, Limited; 2012.
3. Coates TD. (2019). Overview of neutropenia in children and adolescents. In: T.W. Post, E.R. Stiehm & P. Newburger (Eds.), UpToDate. Available from <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-neutropenia-in-children-and-adolescents?search=overview-of-neutropenia-in>.
4. Newburger PE, Dale DC. Evaluation and management of patients with isolated neutropenia. Semin Hematol. 2013;50(3):198-206.
5. Farruggia P, Fioredda F, Puccio G, Onofrillo D, Russo G, Barone A, et al. Idiopathic neutropenia of infancy: Data from the Italian Neutropenia Registry. Am J Hematol. 2019;94(2):216-22.
6. Andersen CL, Tesfä D, Siersma VD, Sandholdt H, Hasselbalch H, Bjerrum OW, et al. Prevalence and clinical significance of neutropenia discovered in routine complete blood cell counts: A longitudinal study. J Intern Med. 2016;279(6):566-75.

Nadopuna smjernica za dijagnostiku i liječenje anemije uzrokovane manjkom željeza

Marijo Vodanović¹, Ivo Radman¹, Dražen Pulanić^{1,2}, Inga Mandac Smoljanović³, Delfa Radić-Krišto³, Duška Petranović⁴, Hrvoje Holik⁵, Ivan Krečak⁶, Renata Babok Flegarić⁷, Martina Marjanović⁸, Jelena Roganović⁴, Toni Valković⁴, Slobodanka Ostojić Kolonić^{2,3}, Vlatko Pejša^{2,9}, Igor Aurer^{1,2}, Rajko Kušec^{2,9}, za Radnu skupinu KroHema za benigne hematološke bolesti

¹ KBC Zagreb

² Medicinski fakultet Sveučilište u Zagreb

³ KB Merkur

⁴ KBC Rijeka

⁵ OB „Dr. Josip Benčević” Slavonski Brod

⁶ OB Šibenik

⁷ OB Varaždin

⁸ OB Bjelovar

⁹ KB Dubrava

Ovaj tekst je nadopuna smjernica Hrvatskog društva za hematologiju Hrvatskog liječničkog zbora (HLZ-a) i KroHema za zbrinjavanje anemije uzrokovane manjkom željeza objavljenih u Liječničkom vjesniku (1), o čemu se raspravljalo na virtualnom sastanku Radne skupine za benigne hematološke bolesti KroHema 12. studenoga 2020., u suradnji s Hrvatskim društvom za hematologiju HLZ-a.

Cilj ove nadopune smjernica je prilagoditi postojeće smjernice ponajviše liječnicima obiteljske medicine, kao i drugim liječnicima koji nisu hematolozi. Anemija je najzastupljenija među svim dijagnozama prvih pregleda u hematološkim ordinacijama i dnevnim bolnicama (29 %) u Hrvatskoj, od čega je najčešća upravo anemija uslijed manjka željeza (76 % bolesnika) (2). Liječnici obiteljske medicine su oni koji najčešće upućuju bolesnike s anemijom na prvi pregled u hematološke ambulante i dnevne bolnice (u 82 % slučajeva) (2), stoga se ovim nadopunama smjernica nastoji pospješiti zbrinjavanje bolesnika s anemijom uslijed manjka željeza na razini primarne zdravstvene zaštite.

1. Definicija i dijagnoza anemije uzrokovane manjkom željeza

Općenito je prihvaćena definicija anemije Svjetske zdravstvene organizacije koja anemiju određuje kao vrijednost hemoglobina (Hb) < 130 g/L za muškarce, < 120 g/L za žene i < 110 g/L za trudnice (3,4). Manjak željeza može biti apsolutni i funkcionalni (Tablica 1.) (5).

Tablica 1. Karakteristike apsolutnog i funkcionalnog manjka željeza.

Apsolutni manjak željeza	<ul style="list-style-type: none"> • Sniženo serumsko željezo (Fe) < 10 umol/L i povišen UIBC i zasićenost transferina (Fe x 100/TIBC) < 20% • ili nizak feritin <30 ug/L
Funkcionalni manjak željeza	<ul style="list-style-type: none"> • Feritin < 100 (ili 100 – 300 *) µg/L i zasićenost transferina (Fe x 100/TIBC) < 20% * Feritin može u funkcionalnom manjku željeza kod malignih bolesti i bolesnika na hemodijalizi biti do 500 µg/L

Apsolutni manjak željeza podrazumijeva sniženu razinu serumskog željeza (Fe), povišen UIBC (nezasićeni kapacitet vezanja željeza, eng. “Unsaturated Iron Binding Capacity”), sniženu zasićenost transferina (sniženi omjer Fe i TIBC (ukupni kapacitet vezanja željeza, eng. “Total Iron Binding Capacity”)), te sniženi feritin. Najosjetljiviji i najpouzdaniji test za detekciju nedostatka željeza i zaliha željeza u tijelu jest feritin. Najčešće je feritin < 30 µg/L dijagnostički pokazatelj apsolutnog manjka željeza. Snižena razina Fe i povišen TIBC koreliraju sa stupnjem sideropenije i sideropenične anemije.

Funkcionalni manjak željeza javlja se zbog neadekvatne dopreme željeza u koštano srž usprkos dostatnim rezervama (uređan ili povišen feritin) kod bolesnika s anemijom kronične bolesti (npr. autoimunosne bolesti poput reumatoidnog artritisa, sistemskog lupusa i dr., upalne bolesti crijeva, zloćudne bolesti), u srčanom popuštanju, u kronič-

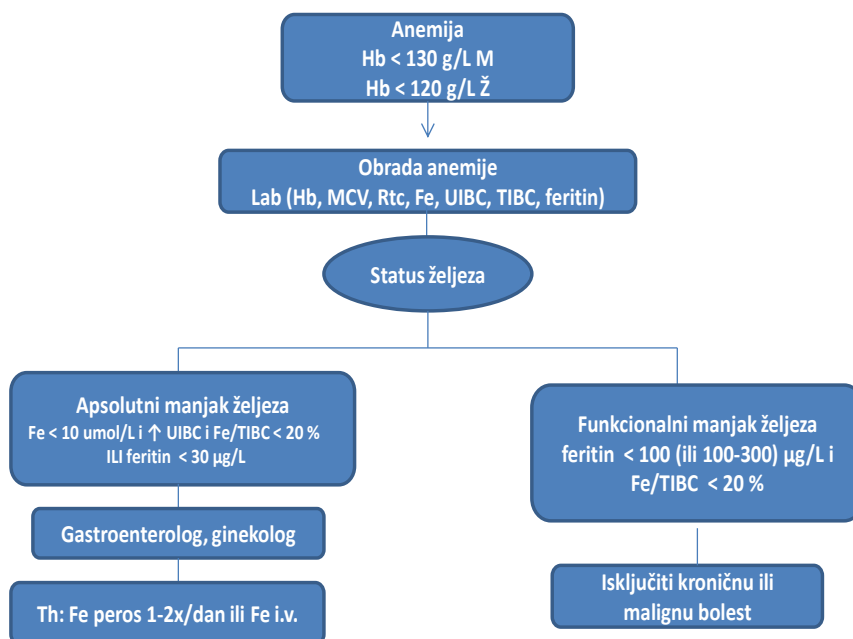
noj bubrežnoj bolesti. Karakterizira je nedovoljno iskorištavanje te manjak biorasploživog željeza. Ova anemija najčešće je normocitna (uredan MCV), blaga do umjerena. Feritin je uglavnom iznad 100 µg/L, često 100–300 µg/L, rijetko iznad 800 µg/L, a **zasićenost transferina manja je od 20% (6-8)**. Tablica 1. prikazuje razlike između apsolutnog i funkcionalnog manjka željeza.

Preporuka je da liječnici obiteljske medicine i drugih struka (opći internisti, internisti drugih užih internističkih specijalizacija, anesteziolozi, gineko-

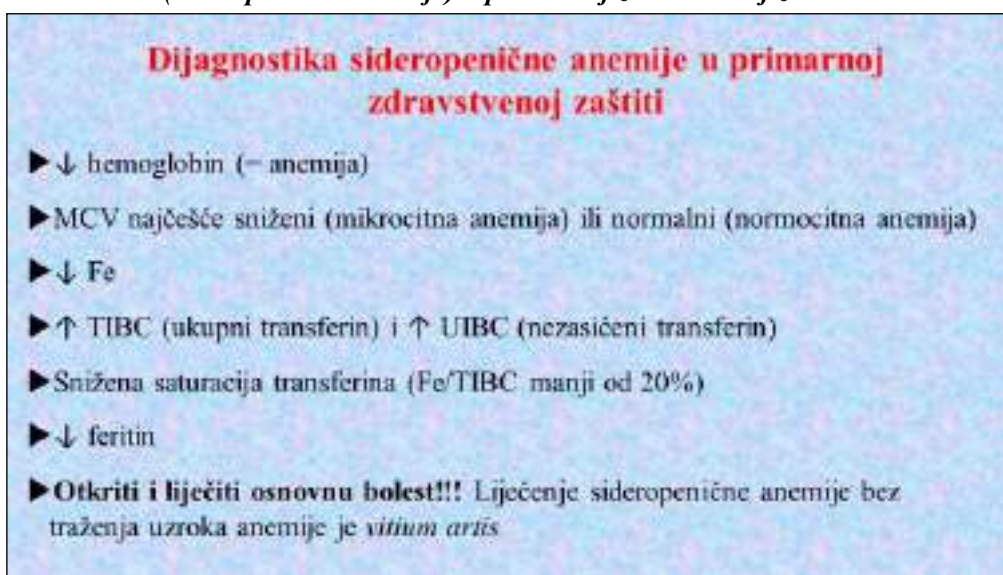
lozi, onkolozi...) postave dijagnozu anemije i vrstu manjka željeza temeljem kompletne krvne slike (KKS, dif, Tr, Hb, MCV, Rtc) i laboratorijskih parametara prisutnosti željeza u organizmu (Fe, UIBC, TIBC, feritin).

Slika 1. prikazuje dijagnostički algoritam anemije zbog apsolutnog ili funkcionalnog manjka željeza u izvanbolničkim uvjetima, a **Slika 2.** sažeto dijagnostiku sideropenične anemije u primarnoj zdravstvenoj zaštiti.

Slika 1. Dijagnostički algoritam anemije zbog apsolutnog ili funkcionalnog manjka željeza u izvanbolničkim uvjetima.



Slika 2. Laboratorijska dijagnostika anemije uslijed apsolutnog nedostatka željeza (sideropenične anemije) u primarnoj zdravstvenoj zaštiti.



2. Liječenje anemije uzrokovane manjkom željeza

Cilj liječenja anemije uzrokovane manjkom željeza jest utvrditi i liječiti uzrok koji je doveo do

anemije (ginekološka, gastrointestinalna ili druga krvarenja, zloćudna bolest, neadekvatan unos željeza hranom...), te nadoknaditi željezo kako bi se

normalizirala krvna slika (Hb, MCV), serumsko željezo, te feritin kao pokazatelj zaliha željeza u organizmu (9). Nakon dijagnosticiranja anemije uzrokovane manjkom željeza nužno je obraditi i liječiti bolesnike kod nadležnih specijalista prema etiologiji nastanka bolesti (ginekolozi, gastroenterolozi, onkolozi...). Anemije drugih uzroka (autoimunosne hemolitičke anemije, aplastična anemija, megalobla-

stična anemija, membranopatije, hemoglobinopatije, anemije uslijed hematoloških neoplazmi...) dijagnosticiraju se i liječe u specijalističkim hematološkim ambulancama ili dnevnim bolnicama.

U nadoknadi željeza se rabe peroralni i parenteralni pripravci željeza (Tablica 2.).

Tablica 2. Osnovna i dopunska HZZO-ova lista parenteralnih (P) i oralnih (O) pripravaka željeza (na datum 15.2.2021.)

Naziv lijeka/Listu HZZO-a	Primjena	Proizvođač	Zaštićeno ime	Pakiranje	Doziranje
željezo karboksimaltoza /Osnovna lista	P	Vifor France S.A.	Ferinject	otop. za inj. ili inf. , boč. 1x10 ml (50 mg/ml)	1000 mg /jednokratno
željezo III-oksidi saharat /Osnovna lista	P	Sandoz	Venofer	1x100 mg	200 mg i.v./dan
željezo III-sorbitol glukonska kiselina / Osnovna lista	P	Sanofi	Ferlecit	1x62,5 mg	125 mg i.v./dan
Željezova III derizomaltoza / Osnovna lista	P	Pharmacosmos A/S	Monofer	otop. za inj./inf., amp./boč. 5x5 ml (100 mg/ml)	15 – 20 mg/kg Jednokratno
željezo II – fumarat /Osnovna lista	O	Alkaloid d.o.o.	Heferol	caps. 30x350 mg	1- 2 caps/dan
željezo III - hidroksi polimaltozat / Dopunska lista	O	Sandoz - Lek	Ferrum	tbl. 30 x 100 mg	1-2 caps/dan
željezo III-hidroksi polimaltozat / Dopunska lista	O	Sandoz - Lek	Ferrum	boč. 1x100 ml (50 mg/5 ml)	10 -20 ml/dan
željezo III - proteinsukcinilat / Dopunska lista	O	Alkaloid	Legofer	otop. oral. 150 ml (40mg/15ml)	15 ml/dan

Peroralni pripravci željeza. Primjena peroralnih pripravaka željeza učinkovita je u većine bolesnika sa sideropeničnom anemijom, te je i dalje najčešće prva linija terapije sideropenične anemije. Preporučena doza elementarnog željeza iznosi 100 – 200 mg/dan, a dodatak vitamina C poboljšava apsorpciju ($2 \times$ na dan 250 – 500 mg). Liječenje prosječno traje 3 – 6 mjeseci. Najčešće nuspojave jesu mučnina, povraćanje, konstipacija, metalni okus u ustima, tamna stolica. Razlozi neuspjeha peroralne terapije željezom jesu nuspojave, prekratko trajanje liječenja ili nesuradljivost bolesnika, ali i protražirano krvarenje, funkcionalni manjak željeza, poremećena apsorpcija probavnog trakta (na primjer, kronični atrofični gastritis, upalne bolesti crijeva, celijakija, stanje nakon opsežnih kirurških zahvata u abdomenu) (1,9,10).

Parenteralni pripravci željeza. Novi visokodozni pripravci intravenskog željeza (željezova karboksimaltoza i željezova derizomaltoza) unaprijedili su mogućnosti liječenja anemije uslijed nedostatka željeza. Primjenjuju se jednokratno ili u maksimalno dvije primjene, za razliku od prijašnjih intravenskih pripravaka koji su se aplicirali u višednevnim aplikacijama (prosječno je ranije trebalo 7 – 10 dnevnih aplikacija za oporavak krvne slike i ferograma). Učinkovitost se postiže zahvaljujući

stabilnom ugljikohidratnom nosaču, kontroliranom otpuštanju željeza i njegovim visokim iskorištavanjem u sideropeničnoj anemiji (95 – 99%) (11-13). Novi intravenski pripravci željeza otpuštaju značajno manje slobodnih radikala, rijeđe nastaju reakcije preosjetljivosti, dok praktički nema teških alergijskih reakcija poput anafilaktičke reakcije. Najčešće infuzijske reakcije na nove intravenske pripravke željeza stupnja su 0 ili 1 (13,14), a najčešće nuspojave su mučnina, povraćanje, svrbež kože, bolovi u mišićima, zglobovima i leđima, te hipofosfatemija koja je najčešće prolazna i samoograničavajuća (1). Uprkos dobrom sigurnosnom profilu, neophodno je da tijekom primjene intravenskog pripravaka željeza bude prisutno educirano medicinsko osoblje (liječnik i medicinska sestra) s potrebnom opremom za zbrinjavanje infuzijske reakcije.

Koga liječiti intravenskim željezom?

Osnovne indikacije (1):

- Neučinkovitost peroralne terapije.
- Intolerancija peroralnog željeza (nepodnošljivost ili refraktornost na liječenje (stanje nakon gastrektomije, duodenalne prenosnice, infekcija s *H. pylori*, celijakija, atrofični gastritis, upalne bolesti crijeva).
- Potreba za brzim oporavkom (teški nedostatak željeza uz anemiju u 2. i 3. trimestru trudnoće,

kronična krvarenja, nasljedni i stečeni poremećaji koagulacije).

- Zamjena za transfuzije eritrocita kod bolesnika koji ih odbijaju iz religijskih razloga (Jehovini svjedoci).

Potencijalne indikacije (1):

- Anemija kronične bolesti (samostalno iv željezo ili uz primjenu stimulatora eritropoeze te ukoliko nije došlo do adekvatnog odgovora na stimulator eritropoeze).
- Kronična bubrežna bolest (samostalno iv željezo ili uz primjenu stimulatora eritropoeze te ukoliko nije došlo do adekvatnog odgovora na stimulator eritropoeze).
- Perzistirajuća anemija u bolesnika s malignim bolestima (samostalno iv željezo ili uz primjenu stimulatora eritropoeze).
- Perioperativna priprema.
- Nedostatak željeza s anemijom ili bez nje u bolesnika sa srčanim zatajenjem.

Nema jasne definicije koja je vrijednost hemoglobina granična za primjenu intravenskog željeza (smatra se Hb < 100 g/L kod sideropenične anemije, apsolutnog manjka željeza) ali potrebno je u obzir uzeti i težinu bolesnikovih simptoma i znakova bolesti.

Intravensko željezo može se uspješno primijeniti u primarnoj zdravstvenoj zaštiti, uz potrebnu odgovarajuću opremu, pripremu i edukaciju medicinskog osoblja (15-17). Time će liječenje anemije zbog manjka željeza biti dostupnije i jednostavnije većem broju bolesnika zbrinutih na razini primarne zdravstvene zaštite, dok se u utvrđivanje etiologije i liječenje osnovne bolesti koja je dovela do nedostatka željeza trebaju uključiti i drugi specijalisti ovisno o osnovnom uzroku anemije (gastroenterolog, ginekolog, onkolog...). Primjena intravenskih pripravaka željeza u odgovarajuće opremljenim izvanbolničkim uvjetima rasteretit će prenapućene hematološke dnevne bolnice i dovest će do bržeg zbrinjavanja bolesnika s anemijom zbog manjka željeza. U hematološke dnevne bolnice, odnosno specijalističke hematološke ambulante potrebno je uputiti bolesnike kod kojih je uzrok anemije nejasan, ako imaju neku drugu vrstu anemije ili ukoliko nije došlo do odgovora na primijenjenu terapiju od strane liječnika obiteljske medicine.

Literatura:

1. Radman I, Vodanović M, Mandac-Rogulj I, Roganović J, Petranović D, Valković T, i sur. Smjernice Hrvatskog društva za hematologiju HLZ-a i KROHEM-a za zbrinjavanje anemije uzrokovane manjkom željeza. *Liječ Vjesn* 2019;141:1-13.
2. Vodanović M, Pulanić D, Krečak I, Gverić Krečak V, Holik H, Flegarić-Babok R, i sur. Rezultati presječne studije Krohem-a o prvim pregledima anemija u hematološkim ambulantom. *Liječ Vjesn* 2020;142;suppl 3;15-16.
3. World Health Organisation. *Worldwide Prevalence of Anaemia*. 1993-2005. WHO, 2008.
4. Girelli D, Ugolini S, Busti F, Marchi G, Castagna A. Modern iron replacement therapy: clinical and pathophysiological insights. *Int J Hematol* 2018;107:16-30.
5. Goddard AF, James MW, McIntyre AS, Scott BB. Guidelines for the management of iron deficiency anaemia. *Gut* 2011;60:1309-16.
6. Girelli D, Nemeth E, Swinkels DW. Hepcidin in the diagnosis of iron disorders. *Blood* 2016;127:2809-13.
7. Dignass AU, Gasche C, Bettenworth D, Birgegård G, Danese S, Gisbert JP, i sur. European Consensus on the Diagnosis and Management of Iron Deficiency and Anaemia in Inflammatory Bowel Diseases. *J Crohns Colitis* 2015;9(3):221-2.
8. Thomas DW, Hinchliffe RF, Briggs C, Macdougall IC, Littlewood T, Cavill I, i sur. Guideline for the laboratory diagnosis of functional iron deficiency. *Br J Haematol* 2013;161:639-48.
9. Hershko C, Camaschella C. How I treat unexplained refractory iron deficiency anemia. *Blood* 2014;123:26-33.
10. van Santen S, De Mast Q, Oosting JD, van Ede A, Swinkels DW, van der Ven AJ. Hematologic parameters predicting a response to oral iron therapy in chronic inflammation. *Haematologica* 2014; 99(9):171-173.
11. Macdougall IC, Bock AH, Carrera F, Eckardt KU, Gaillard C, Van Wyck D, i sur. FIND-CKD: a randomized trial of intravenous ferric carboxymaltose versus oral iron in patients with chronic kidney disease and iron deficiency anemia. *Nephrol Dial Transplant* 2014;29(11):2075-84.
12. Bager P, Dahlerup JF. The health care cost of intravenous iron treatment in IBD patients depends on the economic evaluation perspective. *J Crohn Colitis* 2010;4:427-30.
13. Auerbach M, Ballard H. Clinical use of intravenous iron: administration, efficacy and safety. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2010;2010:338-47.
14. Rampton D, Folkersen J, Fishbane S, Hedenus M, Howaldt S, Locatelli F, i sur. Hypersensitivity reactions to intravenous iron: guidance for risk minimization and management. *Haematologica* 2014;99:1671-6.
15. Naim M, Hunter J. Intravenous iron replacement - management in general practice *Aust Fam Physician* 2010;39(11):839-41.
16. Kuster M, Meli DN. Treatment of iron deficiency with intravenous ferric carboxymaltose in general practice: a retrospective database study. *J Clin Med Res*. 2015;7(1):37-40.
17. Meier R, Keizer E, Rosemann T, Markun S Indications and associated factors for prescribing intravenous iron supplementation in Swiss general practice: a retrospective observational study. *Swiss Med Wkly*. 2019;149:w20127.

Karakteristike novooboljelih bolesnika s autoimunom hemolitičkom anemijom: prospektivna opservacijska multicentrična studija KroHema

Dražen Pulanić^{1,2}, Mirela Raos¹, Grgur Salai², Vlatka Periša³, Zdravko Mitrović⁴,
Viktor Blaslov⁵, Ivan Krečak⁶, Hrvoje Holik⁷, Velka Gverić-Krečak⁶, Josipa Vlasac Glasnović⁵,
Antonija Miljak⁵, Ana Boban^{1,2}, Marijo Vodanović¹, Igor Aurer^{1,2}

¹ KBC Zagreb

² Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

³ KBC Osijek i Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku

⁴ KB Dubrava

⁵ KBC Split

⁶ OB Šibenik

⁷ OB „Dr. Josip Benčević“ Slavonski Brod

Autoimunosne hemolitičke anemije (AIHA) su rijetke bolesti posredovane autoantitijelima usmjerenih protiv antigena eritrocita što dovode do preuranog razaranja eritrocita i anemije (1-3). Ovisno o podležućoj patologiji, AIHA se mogu klasificirati kao primarne ili sekundarne (npr. uslijed limfoproliferativnog poremećaja, autoimunosne bolesti ili infekcije), a u ovisnosti o tipologiji autoantitijela, ove se bolesti mogu klasificirati kao tople (najčešće IgG klase), hladne (najčešće IgM klase) ili miješane AIHA-e (2).

Klinički se AIHA-e prezentiraju anemijom, uz znakove hemolize, a u velikoj većini slučajeva bolesnici s AIHA-om imaju pozitivan direktni antiglobulinski test (DAT), u literaturi poznat i kao direktni Coombsov test, koji čini temelj potvrde dijagnoze (1). Podatci o kliničkim karakteristikama AIHA su rijetki, posebice ako se prospektivno prate na razini više bolničkih centara. Nadalje, terapijske smjernice nisu standardizirane, a randomizirane dvostruko slijepe studije su rijetke (1,4). Cilj ovog rada je ispitati karakteristike odraslih osoba s AIHA-om u hrvatskim hematološkim centrima. Preliminarni rezultati ove studije su prikazani na 8. hrvatskom kongresu hematologa (5).

Prospektivna neintervencijska opservacijska studija provedena je u sklopu Radne skupine za benigne hematološke bolesti Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti KroHem, a uključila je novodijagnosticirane bolesnike starije od 18 godina tijekom 2019. godine u Kliničkom bolničkom centru Zagreb, Kliničkom bolničkom centru Osijek, Kliničkom bolničkom centru Split, Kliničkoj bolnici Dubrava, Općoj bolnici Šibenik te Općoj bolnici dr. Josip Benčević u Slavonskom Brodu. Prikupljeni podaci iz navedenih centara su objedinjeni te analizirani metodama deskriptivne statistike: rezultati

kategoričkih varijabli prikazani su kao frekvencije (postotak), a kontinuirane varijable su prikazane kao prosječna vrijednost (\pm standardna devijacija) za parametrijski te kao medijan (minimum – maksimum) za neparametrijski distribuirane podatke. Etička povjerenstva uključenih ustanova su odobrila ovo istraživanje.

U ovo je istraživanje bilo je uključeno 52 bolesnika, od kojih su 33 (63%) osobe bile ženskog spola, karakteristike bolesnika prikazane su u Tablici 1.

Tablica 1. Prikaz karakteristika bolesnika.

Demografske karakteristike	Ukupno bolesnika		52
	Muškarci		19 (37%)
	Žene		33 (63%)
	Dob pri dijagnozi		65 (24-90)
Podjela prema etiologiji	Primarna		19 (37%)
	Sekundarna		33 (63%)
	Podležuća bolest	Limfoproliferativna bolest	17 (52%)
		Autoimunosna bolest	8 (24%)
		Ostalo	8 (24%)
Podjela prema tipizaciji antitijela	Topla		39 (75%)
	Hladna		8 (15%)
	Miješana		5 (10%)
Transfuzija koncentratima eritrocita pri dijagnozi			31 (61%)
Laboratorijske vrijednosti pri dijagnozi	Koncentracija hemoglobina		75 (37-130) g/L
	Koncentracija laktat dehidrogenaze		467 (189-3272) U/L
	Pozitivan DAT		52 (100%)
Terapija	Kortikosteroidna terapija		52 (100%)
	Rituksimab*		16 (31%)
	Splenektomija**		2 (4%)

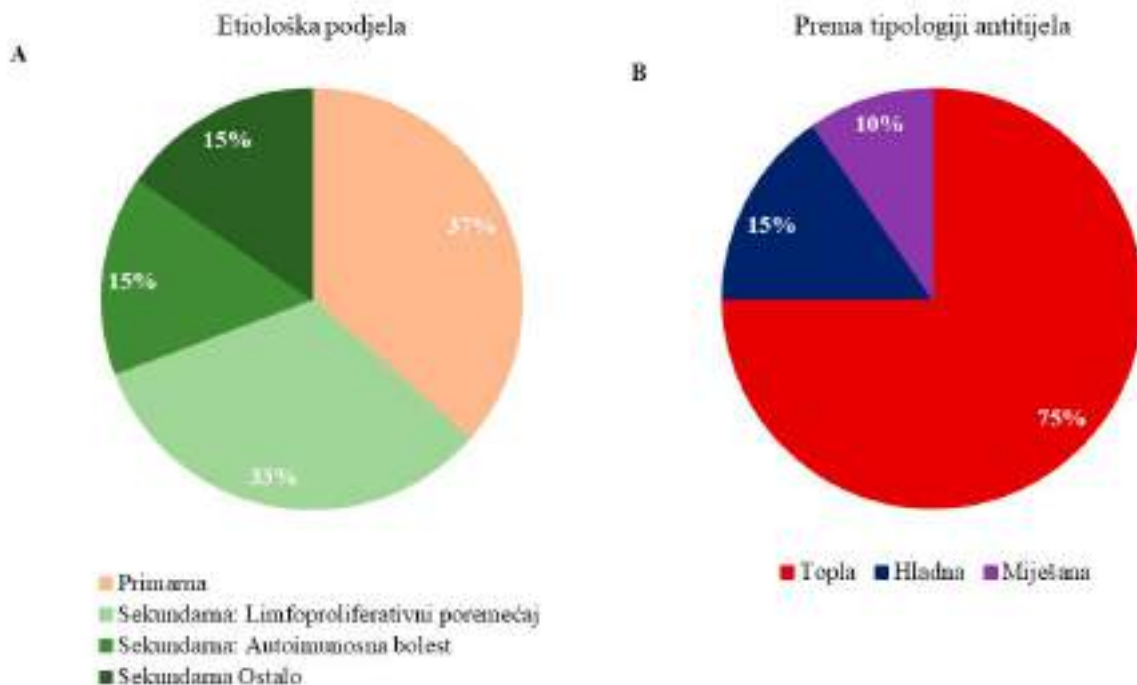
* - Rituksimab je primijenjen kao 2. ili 3. linija terapije i/ili u bolesnika s podležućom limfoproliferativnom bolesti kao 1.-3. linija terapije

** - Splenektomija je primijenjena kao 3. i 4. linija terapije Kontinuirane varijable prikazane su kao medijan (minimum maksimum), a kategoričke kao frekvencija (postotak).

Svi bolesnici imali su pozitivan DAT. Medijan dobi pri dijagnozi bio je 65 (24-90) godina. Primarnu AIHA-u imalo je 19 (37%) bolesnika, a preostalih 33 (63%) imalo je AIHA-u povezanu s različitim osnovnim bolestima, od kojih su najčešće bile

limfoproliferativne neoplazme (17 (52%) bolesnika) (Slika 1.A). Prema tipologiji autoantitijela, najčešća je bila topla AIHA – u 39 (75%) bolesnika. Hladnu AIHA-u imalo je 8 (15%), a miješanu 5 (10%) oboljelih (Slika 1.B).

Slika 1. Grafički prikaz raspodjele podvrsta AIHA-e: A. prema etiologiji, B. prema tipologiji antitijela



Prilikom dijagnoze, medijan koncentracije hemoglobina bio je 75 (37-130) g/L, a koncentracije laktat dehidrogenaze (LDH) pri dijagnozi bila je 467 (189-3272) U/L. Transfuziju koncentratima eritrocita prilikom dijagnoze primio je 31 (60%) pacijent. U prvoj liniji liječenja, bolesnicima je većinom ordinirana kortikosteroidna terapija. Rituksimab je primilo 16 (31%) bolesnika, uglavnom u sklopu liječenja osnovne (limfoproliferativne) bolesti ili pak u 2. ili 3. liniji terapije AIHA-e. U 2 slučaja (4%) učinjena je splenektomija u 3. i 4. liniji terapije.

U zaključku, rezultati ove studije produkt su zajedničkih napora u sklopu Radne skupine za benigne hematološke bolesti KroHema. U planu je daljnje praćenje bolesnika kako bi se detektirao dugotrajni odgovor na terapiju te zabilježila pojavnost eventualnih relapsa bolesti. Prikazane deskriptivne značajke ove studije su usporedive s podacima iz literature (6) kao i s podacima unicentrične retrospektivne petogodišnje analize (2014.-2018.) provedene u Kliničkom bolničkom centru Zagreb (7); u odnosu na tu retrospektivnu studiju uočena je povećana učestalost korištenja rituksimaba (31% vs 18%), što je vjerojatno posljedica povećane dostupnosti i niže cijene ovog lijeka.

Literatura:

- Jäger U, Barcellini W, Broome CM, et al. Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults: Recommendations from the First International Consensus Meeting. *Blood Rev.* 2020;41(xxxx):100648. doi:10.1016/j.blre.2019.100648
- Cytopenias A, Despotovic JM. *Immune Hematology*; 2018. doi:10.1007/978-3-319-73269-5
- Barcellini W, Zaninoni A, Giannotta JA, Fattizzo B. New Insights in Autoimmune Hemolytic Anemia: From Pathogenesis to Therapy. *J Clin Med.* 2020;9(12):3859. doi:10.3390/jcm9123859
- Zanella A, Barcellini W. Treatment of autoimmune hemolytic anemias. *Haematologica.* 2014;99(10):1547-1554. doi:10.3324/haematol.2014.114561
- Pulanić D, Raos M, Periša V, et al. Autoimunske hemolitičke anemije - preliminarni rezultati prospektivne opservacijske studije Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti KroHem. *Liječnički Vjesn.* 2020;Suplement 4:14-20.
- Genty I, Michel M, Hermine O, Schaeffer A, Godeau B, Rochant H. [Characteristics of autoimmune hemolytic anemia in adults: retrospective analysis of 83 cases]. *La Rev Med interne.* 2002;23(11):901-909. doi:10.1016/s0248-8663(02)00688-4
- Pulanić D, Raos M, Vinković M, et al. Characteristics of newly diagnosed autoimmune hemolytic anemia: 5-years of single-center experience. In: *European Hematology Association Congress.* 2019:PB1963.

Nadopuna smjernica za dijagnostiku i liječenje imunosne trombocitopenije u odraslih

Dražan Pulanić^{1,2}, Silva Zupančić-Šalek^{2,3,4}, Ana Boban^{1,2}, Slobodanka Ostojić Kolonić^{2,5}, Davor Galušić⁶, Toni Valković⁷

¹ KBC Zagreb

² Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu

³ KB Sveti Duh

⁴ Medicinski fakultet Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku

⁵ KB Merkur

⁶ KBC Split

⁷ KBC Rijeka, Medicinski fakultet i Fakultet zdravstvenih studija Sveučilište u Rijeci

Postojeće Hrvatske smjernice za dijagnostiku i liječenje primarne imunosne trombocitopenije (ITP) u odraslih objavljene su u Liječničkom vjesniku 2017. godine (1). S obzirom da su u međuvremenu publicirane nove međunarodne smjernice za ITP (2,3), te da su nastupila nova znanja i stavovi posebno o terapijskom pristupu toj bolesti (4,5), ovaj tekst nadopuna je postojećih hrvatskih smjernica prilagođen najsuvremenijim saznanjima o ITP-u. Ova nadopuna smjernica za ITP u odraslih izrađena je suradnjom Radne skupine za benigne hematološke bolesti Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti KroHem, Hrvatskog društva za hemostazu i trombozu Hrvatskog liječničkog zbora (HLZ) i Hrvatskog društva za hematologiju HLZ-a.

1. Definicija imunosne trombocitopenije

U samoj definiciji primarne ITP nije došlo do promjene; ITP je stečeni autoimunosni poremećaj koji dovodi do izoliranog smanjenja broja trombocita ispod $100 \times 10^9/L$ u perifernoj krvi, uz izostanak uzročnog ili osnovnog stanja koje je moglo dovesti do trombocitopenije (1-3, 6,7). Imuna trombocitopenija dijeli se prema trajanju bolesti na: a) akutnu (novodijagnosticiranu) ITP u trajanju do tri mjeseca nakon postavljanja dijagnoze, b) perzistentnu ITP koja traje od tri do dvanaest mjeseci nakon postavljanja dijagnoze, i c) kroničnu ITP koja traje dulje od dvanaest mjeseci nakon postavljanja dijagnoze (1-7).

2. Dijagnostička obrada imunosne trombocitopenije

Dijagnoza ITP-a pretpostavlja se kada anamneza, fizikalni pregled, kompletna krvna slika i citološka analiza razmaza periferne krvi ne ukazuju na drugu etiologiju trombocitopenije. Ne postoji "zlatni standard" za postavljanje dijagnoze ITP-a. Potrebno

je isključiti niz čestih uzroka sekundarne trombocitopenije: virusne bolesti, imunodeficijencije, autoimunosne bolesti (osobito sistemski eritemski lupus i antifosfolipidni sindrom), limfoproliferativne bolesti, primjenu antitrombotičnih i drugih lijekova te recentno primijenjenih cjepiva (1-3, 6,7). Tijekom pregleda bolesnika bitno je provjeriti postoje li uz simptome krvarenja i hepatosplenomegalija, limfadenopatija, ili znaci kongenitalnih poremećaja. U analizi hematoloških nalaza treba potvrditi izoliranu trombocitopeniju s razinom trombocita manjom od $100 \times 10^9/L$, uz normalan broj leukocita i normalnu diferencijalnu krvnu sliku. Anemija je moguća samo uz značajna krvarenja. U obradu je svakako potrebno uključiti citološki razmaz periferne krvi (kako bi se isključila pseudotrombocitopenija i drugi hematološki poremećaji), broj retikulocita, direktni antiglobulinski test, kvantitativno određivanje imunoglobulina, testiranje na HIV, HCV, HBV, te *Helicobacter pylori*. Tijekom obrade mogu se odrediti i antitrombotična, antifosfolipidna i antinuklearna antitijela, hormoni štitnjače, te PCR na parvovirus i CMV, iako temeljem razine dokaza ne postoje izrazite preporuke za navedene pretrage u obradi ITP-a. Analiza koštane srži nije potrebna u bolesnika s tipičnom prezentacijom ITP-a, no može biti potrebna u starijih od 60 godina, u bolesnika sa sustavnim simptomima, u kojih postoji sumnja na hematološku neoplazmu, u onih koji ne odgovaraju na terapiju za ITP, u onih s relapsom ITP-a te u onih u kojih se planira splenektomija (1-3,6,7). U bolesnika u kojih se planira splenektomija potrebno je isključiti Gaucherovu bolest. Uz morfološku analizu koštane srži, treba razmotriti protočnu citometriju i citogenetiku (1-3, 6,7). Ako je utvrđen uzrok koji je doveo do ITP-a (autoimunosna, virusna, limfoproliferativna bolest...) onda je riječ o sekundarnoj ITP.

Terapijski odgovor na terapiju specifičnu za liječenje ITP-a (kortikosteroidi, intravenski imunoglobulini (IVIg)) podržava dijagnozu ITP-a, no ne isključuje sekundarni ITP (koji također često odgovara na terapiju IVIg-om i kortikosteroidima) (2,3). Potpuni izostanak odgovora na terapiju kortikosteroidima te posebno IVIg-om nalaže oprez pri postavljanju dijagnoze ITP-a.

3. Ciljevi liječenja imunosne trombocitopenije

Nakon inicijalne dijagnostičke obrade, važno je steći uvid u životni stil bolesnika, rizike od ozljeda i krvarenja vezane uz zanimanje i uobičajene tjelesne aktivnosti, te procijeniti učestalost i simptome krvarenja. Važno je utvrditi komorbiditete, provjeriti koristi li bolesnik antitrombocitne ili druge lijekove ili pripravke koji mogu povećavati rizik krvarenja (1-3). S bolesnikom treba raspraviti i usvojiti učinkovit i minimalno rizičan terapijski plan, koji omogućava ostvarenje dobre kvalitete života. Dakle, ciljevi terapije trebaju biti individualizirani prema bolesniku i fazi bolesti. Terapija treba spriječiti epizode ozbiljnog krvarenja, i treba održati ciljanu razinu trombocita od barem $20\text{--}30 \times 10^9/\text{L}$ za simptomatske bolesnike jer se rizik od ozbiljnog krvarenja povećava ako su trombociti ispod ove razine. Terapija treba biti minimalno toksična i treba optimizirati kvalitetu života (1-3, 6,7). Broj trombocita manji od $30 \times 10^9/\text{L}$ uobičajena je granica za početak liječenja. Međutim, kako je već istaknuto, broj trombocita nikako nije jedina i izolirana odrednica početka liječenja. Odluka o početku aktivnog liječenja individualna je za svakog bolesnika i temelji se na ozbiljnosti krvarenja, broju trombocita, riziku krvarenja, životnom stilu, starosti bolesnika i komorbiditetima (1-7).

4. Linije liječenja imunosne trombocitopenije u odraslih:

a) Prva linija liječenja

- **Glukokortikoidi** s IVIg-om ili bez njega okosnica su prve linije terapije, uz ostale hitne postupke prema potrebi. Prednizon u dozi od 1 mg/kg (ili 0,5-2,0 mg/kg) dnevno *per os* primjenjuje se tijekom 2-4 tjedna do postizanja odgovora trombocita, a alternativno se može primijeniti metilprednizolon *per os* ili *iv* u ekvivalentnim dozama. Nakon postizanja odgovora, doza lijeka se postupno smanjuje. Umjesto prednizona ili metilprednizolona mogu se primijeniti i visoke pulsne doze deksametazona 40 mg *iv* dnevno tijekom 4 dana svaka 2-4 tjedna. U odabiru pristupa

liječenju značajnu ulogu imaju želje bolesnika i liječnika te iskustva pojedinih centara. Idealno glukokortikoidne ne treba primjenjivati duže od 6 tjedana, osim u malog broja bolesnika koji mogu imati korist od dugotrajnije terapije glukokortikoidima, ali u niskim dozama.

- **Intravenski imunoglobulini (IVIg)** primjenjuju se uz kortikosteroide ukoliko je potrebno brzo povisiti broj trombocita, primjerice kod ozbiljnog krvarenja ili neodgodivog kirurškog zahvata. Višekratno ili periodično mogu se primijeniti u bolesnika s izostankom ili nedostatnim odgovorom na kortikosteroide. Uz premedikaciju, IVIg se može primijeniti u dnevnoj dozi od 1 g/kg tjelesne težine jedan ili dva dana, a alternativno 0,4 g/kg tjelesne težine na dan tijekom pet dana.
- **Transfuzije koncentrata trombocita u ITP treba izbjegavati**, a ako su nužne u vitalno ugrožavajućim krvarenjima, tada se kombiniraju s primjenom IVIg-a i kortikosteroida.

b) Druga linija liječenja

- **agonisti trombopoetinskih receptora:** za liječenje bolesnika s ITP-om refraktornim na prvu liniju liječenja ili s relapsom bolesti nakon prve linije liječenja. U Hrvatskoj su danas dostupna dva agonista trombopoetinskih receptora – peroralni eltrombopag i supkutani romiplostim. Rezultati kliničkih studija i dugoročnih praćenja iz svakodnevne kliničke prakse ukazuju na visoku učinkovitost i dobar sigurnosni profil ovih lijekova.
- **rituksimab:** u odabраних bolesnika s ITP-om koji nisu imali odgovor ili su izgubili odgovor na prvu liniju liječenja. U vrijeme COVID-19 pandemije prednost dati drugim modalitetima liječenja.

c) Treća i kasnije linije liječenja

- **splenektomija:** idealno najmanje 12-24 mjeseci nakon dijagnoze ITP-a, zbog mogućnosti spontane ili terapijske trajne remisije bolesti.
- **agonisti trombopoetinskih receptora:** u bolesnika s refraktornom bolešću ili relapsom nakon prethodnih linija liječenja. U slučaju neuspjeha liječenja jednim trombopoetinskim agonistom, može se pokušati primjena drugog, budući da su eltrombopag i romiplostim dvije različite molekule, s različitim veznim mjestima na receptoru za trombopoetin.
- **rituksimab:** u odabраних bolesnika s

refraktornom bolešću ili relapsom nakon prethodnih linija liječenja. U vrijeme COVID-19 pandemije prednost dati drugim modalitetima liječenja.

d) Ostali imunosupresivi u bolesnika s refraktornom bolešću ili relapsom nakon prethodnih linija liječenja (unatoč ograničenoj razini kliničkih dokaza)

- azatioprin, mikofenolat mofetil, rjeđe ciklosporin, ciklofosfamid, vinka-alkaloidi, druge terapijske opcije

e) Uključivanje bolesnika u kliničke studije

- razmotriti uključivanje bolesnika u kliničke studije, ukoliko su dostupne.

U zaključku, Hrvatska kao i mnoge europske države ima nacionalne smjernice za dijagnostiku i liječenje ITP-a koje pomažu kliničaru u potrebnoj dijagnostici i odabiru liječenja (8-11). Periodično ih treba obnavljati i dopunjavati kako bi se postojeće znanje o toj rijetkoj bolesti prilagodilo praksi i financijskim mogućnostima pojedine zemlje. Još jednom je nužno naglasiti da je potreban individualizirani pristup za odabir optimalnog liječenja, prilagođenog dobi, životnom stilu, komorbiditetima i očekivanjima pojedinog bolesnika, s ciljem postizanja sigurne razine trombocita kako bi se preveniralo krvarenje, uz minimalnu toksičnost terapije.

Literatura:

1. Zupančić Šalek S, Pulanić D, Ostojić-Kolonić S, Pejša V, Valković T, Nemet D. Hrvatske smjernice za dijagnostiku i liječenje primarne imunosne trombocitopenije u odraslih. *Liječ Vjesn.* 2017;139:192-8.
2. Provan D, Arnold DM, Bussel JB, Chong BH, Cooper N, Gernsheimer T, i sur. Updated international consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood Adv.* 2019;3(22):3780-3817.
3. Neunert C, Terrell DR, Arnold DM, Buchanan G, Cines DB, Cooper N, i sur. American Society of Hematology 2019 guidelines for immune thrombocytopenia. *Blood Adv.* 2019;3(23):3829-3866.
4. Ghanima W, Gernsheimer T, Kuter DJ. How I treat primary ITP in adult patients who are unresponsive to or dependent on corticosteroid treatment. *Blood.* 2021 Apr 7:blood.2021010968.
5. Kochhar M, Neunert C. Immune thrombocytopenia: A review of upfront treatment strategies. *Blood Rev.* 2021 Mar 8:100822.
6. Provan D, Stasi R, Newland AC, Blanchette VS, Bolton-Maggs P, Bussel JB, i sur. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood.* 2010;115:168-186.
7. Neunert C, Lim W, Crowther M, Cohen A, Solberg L Jr, Crowther MA; American Society of Hematology. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood.* 2011;117:4190-4207.
8. Matzdorff A, Giagounidis A, Greinacher A, Hiller E, Kiefel V, Müller-Beissenhirtz H, i sur. Diagnosis and therapy of autoimmune thrombocytopenia. Recommendations of a joint Expert Group of DGHO, DGTI, DTH. *Onkologie.* 2010;33(Suppl 3):2-20.
9. Sanz MÁ, Vicente García V, Fernández A, López MF, Grande C, Jarque I, i sur.; Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia; Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátricas. [Guidelines for diagnosis, treatment and monitoring of primary immune thrombocytopenia]. *Med Clin (Barc).* 2012;138:261.e1-261.e17.
10. Janssens A, Selleslag D, Depaus J, Beguin Y, Lambert C. Primary immune thrombocytopenia in adults: Belgian recommendations for diagnosis and treatment anno 2021 made by the Belgian Hematology Society. *Acta Clin Belg.* 2021;Feb 26:1-14.
11. Pabinger I, Gastl G, Steurer M, Sormann S, Fillitz M, Friedl J, i sur. Primary immune thrombocytopenia in adults: diagnostics and treatment consensus statement of the Austrian Society of Hematology and Oncology (ÖGHO). *Wien Klin Wochenschr.* 2012; 124:111-123.

Trombotična trombocitopenična purpura – novosti u dijagnostičkim mogućnostima

Dražen Pulanić¹, Desiree Coen Herak², Marija Miloš²

¹Odjel za hemostazu i trombozu te benigne bolesti krvotvornog sustava, Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti KBC Zagreb i Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

²Odjel za laboratorijsku hematologiju i koagulaciju, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Zagreb

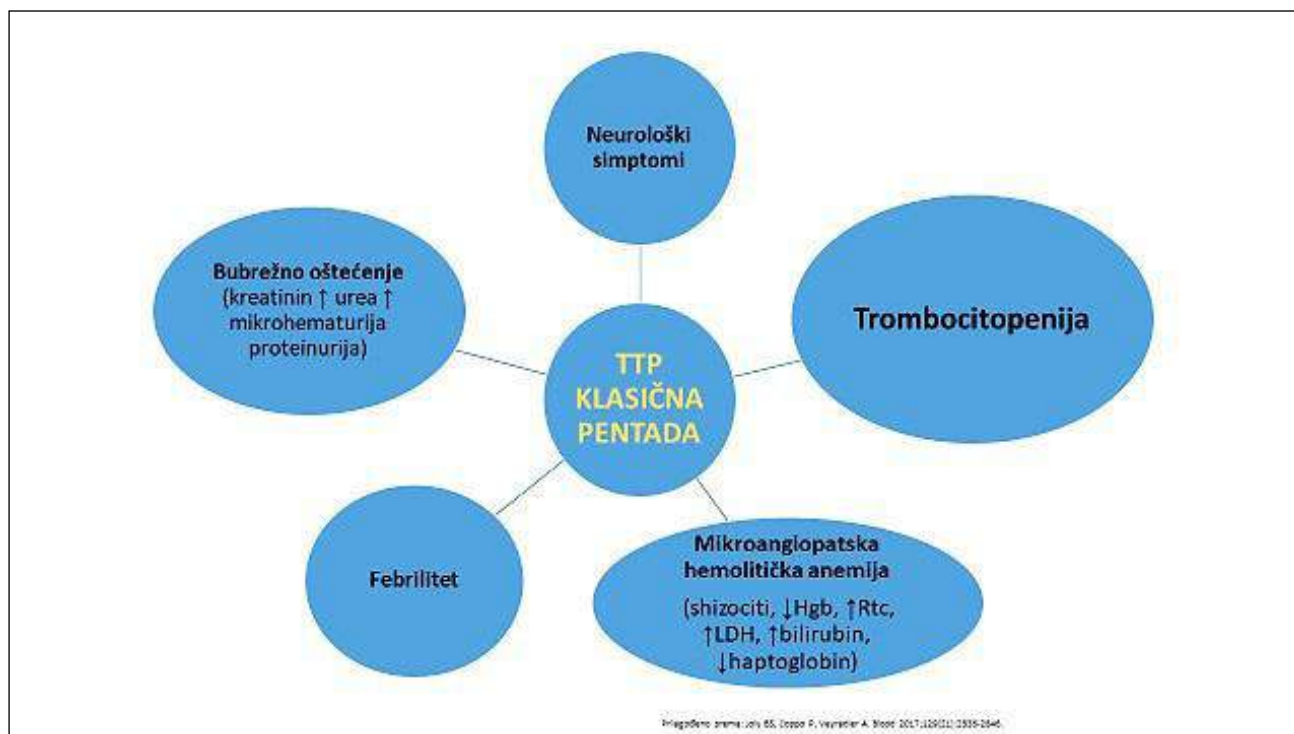
Trombotična trombocitopenična purpura (TTP) rijetki je i potencijalno smrtonosni poremećaj mikrocirkulacije uzrokovan povećanim vezanjem trombocita na multimerne von Willebrandovog faktora (VWF) prekomjerno (ultra) velike molekularne mase. Drugi naziv bolesti je trombotska mikroangiopatija s teškim nedostatkom enzima ADAMTS13 (eng. **A** Disintegrin **A**nd **M**etalloproteinase with a **T**hrombo**S**pondin type 1 motif, member **13**) koji razgrađuje VWF.

Von Willebrandov faktor je složeni veliki multimeri glikoprotein koji ima višestruku ulogu u koagulaciji, uključen i u primarnu i u sekundarnu hemostazu. Von Willebrandov je faktor posrednik adhezije trombocita s endotelom i subendotelom (primarna hemostaza) te nosi i stabilizira faktor VIII

u plazmi (sekundarna hemostaza). U TTP-u postoji manjak ADAMTS13, zbog čega nastaju multimeri VWF-a prekomjerno (ultra) velike molekularne mase koji umrežuju trombocite, pa nastaje mikroangiopatska hemolitička anemija, trombocitopenija, te mikrovaskularni ugrušci u organima, posebno mozgu i bubrezima, ali i u trbušnoj cirkulaciji i u srcu.

Bolest ima dva oblika: 1) **stečeni (autoimunosni) TTP**, u kojem nastaje autoimunosni poremećaj posredovan antitijelima protiv ADAMTS13; i 2) **kongenitalni (nasljedni) TTP**, uzrokovan homozigotnom ili kombiniranom heterozigotnom mutacijom u genu za ADAMTS13.

Na Slici 1. je prikazana takozvana „klasična pentada“ simptoma i znakova TTP-a.



Slika 1. Simptomi i znakovi TTP-a.

Karakteristični laboratorijski nalazi kada se treba posumnjati na TTP su sljedeći: 1) mikroangiopatska hemolitička anemija (snižen hemoglobin, povišeni retikulociti, povišen LDH, povišen bilirubin, snižen haptoglobin, prisutni shizociti u razmazu periferne krvi, negativni direktni antiglobulinski Coombsov test), 2) trombocitopenija 3) bubrežno oštećenje.

Određivanje aktivnosti ADAMTS13 ključno je za potvrdu dijagnoze TTP-a [aktivnost ADAMTS13 manja od 10% ($< 0,10$ kIU/L)], kao i za kasnije praćenje bolesnika. Dugi se niz godina aktivnost ADAMTS13 nije mogla odrediti u našoj državi, već su se uzorci krvi slali u inozemstvo (najčešće u Budimpeštu, Mađarska), te je i u najidealnijim organizacijskim uvjetima bilo potrebno bar nekoliko dana do dobivanja rezultata pretrage. Posljednje dvije godine u Odjelu za laboratorijsku hematologiju i koagulaciju Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb se provodilo polukvantitativno određivanje aktivnosti ADAMTS13, a nedavno je donacijom tvrtke Takeda nabavljen analizator Ceveron s100 (Slika 2.) za kvantitativno određivanje aktivnosti ADAMTS13, čime će se svakako unaprijediti mogućnost dijagnostike ove rijetke, ali potencijalno fatalne bolesti. Na indikaciju hematologa, potrebno je poslati uzorak krvi u jednoj koagulacijskoj epruveti (epruveta s plavim čepom) u Odjel za

laboratorijsku hematologiju i koagulaciju Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb, gdje će se uzorak pohraniti i odrediti kvantitativna aktivnost ADAMTS13. Uzorak za analizu kvantitativne aktivnosti ADAMTS13 potrebno je poslati prije započinjanja terapijske plazmafereze.



Slika 2. Analizator Ceveron s100 za kvantitativno određivanje aktivnosti ADAMTS13.

U zaključku, na TTP treba posumnjati u svakog bolesnika s mikroangiopatskom hemolitičkom anemijom i trombocitopenijom, s ili bez znakova ishemije organa. Terapiju treba započeti temeljem kliničke slike i osnovnih laboratorijskih testova – akutni TTP je hitno stanje. Rano prepoznavanje simptoma i znakova bolesti te pravovremeni početak liječenja mogu značajno smanjiti smrtnost u bolesnika s TTP-om.

Upute korisnicima laboratorijskih usluga vezano za pretrage koje se izvode u dijagnostičkim laboratorijima iz područja citologije, imunofenotipizacije, citogenetike, molekularne dijagnostike i tipizacije tkiva

Članovi Radne skupine Laboratorijsko-dijagnostička hematologija, abecednim redom:
Antonija Babić, Drago Batinić, Sanja Davidović, Klara Dubravčić, Ivana Franić Šimić, Koraljka Gjadrov-Kuveždić, Zorana Grubić, Ivana Horvat, Mirjana Mariana Kardum Paro, Lejla Kurić, Rajko Kušec, Margareta Radić Antolic, Sunčica Ries, Irena Seili-Bekafigo, Mirna Sučić, Mirjana Suver Stević, Zoran Šiftar, Katarina Štingl Janković, Tajana Štoos Veić, Renata Zadro

Laboratorij ima važnu ulogu u donošenju dijagnoze i u kontroli bolesti. Oko 60%-70% kliničkih odluka se zasnivaju na laboratorijskim rezultatima. Greške mogu nastati u bilo kojoj fazi laboratorijskog procesa te se klasificiraju kao predanalitičke, analitičke i postanalitičke. Važna komponenta laboratorijske medicine je predanalitička faza jer je najviše ovisna o ljudskom faktoru i van je neposredne laboratorijske kontrole. Ona se sastoji od brojnih procesa koji se odvijaju prije nego je uzorak obrađen u laboratoriju. Najučestalije predanalitičke greške su zadavanje neadekvatnih pretraga, nepravilno uzorkovanje, uporaba pogrešnog spremnika za uzorak,


nedovoljan volumen uzorka, temperatura na kojoj se uzorak transportira, odgode u transportu, nečitljiv rukopis/zapis na epruveti, uzorci koji nedostaju, nepropisno skladištenje uzorka, itd. Bolja kontrola navedenih varijabli poboljšava kvalitetu laboratorijske analize što ima za posljedicu dobivanje vjerodostojnog rezultata te bolju skrb za bolesnika.

U svrhu standardizacije predanalitičkih postupaka pred nama je dokument s uputama korisnicima laboratorijskih usluga specijalističke dijagnostike u hematologiji (citologija, imunofenotipizacija, citogenetika, molekularna dijagnostika i tipizacija tkiva).

Upute za uzorkovanje i slanje uzoraka za citološke pretrage:

1. Uzorak koštane srži i uzorak periferne krvi pohranjuju se u epruvete koje sadrže EDTA (ljubičasti čep); uzorke je potrebno dopremiti u laboratorij unutar 24 h;
2. Uzorak koji je nanesen na predmetno stakalce (potrebno je 14 stakalaca koštane srži i 6 stakalaca periferne krvi) posuši se na zraku na sobnoj temperaturi; uzorak je potrebno dopremiti u laboratorij unutar 48 sati na sobnoj temperaturi; sva stakalca moraju biti jasno obilježena;
3. U slučaju da punkciju koštane srži ne izvode citolozi, potrebno je voditi računa da se na predmetno stakalce prenesu partikli srži, a ne samo periferna krv. Idealno je da se za citološku analizu iskoristi prvi dio aspiriranog uzorka (a ne nakon uzimanja uzoraka za druge pretrage).

Upute suradnim ustanovama za pretrage koje se izvode u laboratoriju za staničnu imunologiju

Sumnja/Dijagnoza	Uzorak/ volumen*	Popratna dokumentacija	Napomena**	Sadržaj uputnice
Akutte leukemije Mijelodisplastični sindromi	 Koštana srž, EDTA, ≥1 mL	Povijest bolesti	Naznačiti vrstu materijala na epruveti i na uputnici Paneli za imunofenotipizaciju se definiraju prema dijagnozi na koju se sumnja	Napisati (radnu) dijagnozu, vrstu materijala i traženu analizu
Kronične limfoproliferativne bolesti	 Koštana srž, EDTA, ≥1 mL Periferna krv, EDTA, 3 mL Punktat limfnog čvora: KBC Zagreb: EDTA KB Merkur: RPMI 1640 medij ≥ 2 mL u EDTA epruveti	Povijest bolesti	Naznačiti vrstu materijala na epruveti i na uputnici Paneli za imunofenotipizaciju se definiraju prema dijagnozi na koju se sumnja	Napisati (radnu) dijagnozu, vrstu materijala i traženu analizu
Infiltracija neoplastičnim stanicama	 Izjev, spremnik bez antikoagulant, ≥ 16 mL Likvor, spremnik bez antikoagulant, ≥ 1 mL BAL, spremnik bez antikoagulant	Povijest bolesti	Naznačiti vrstu materijala na epruveti i na uputnici Paneli za imunofenotipizaciju se definiraju prema dijagnozi na koju se sumnja Uzorak likvora dostaviti unutar 1h; u slučaju transporta > 1 sata: uzorkovati likvor u EDTA ili RPMI 1640 mediju a izjev u najmanje 2 EDTA epruvete od 10 mL	Napisati (radnu) dijagnozu, vrstu materijala i traženu analizu
Pediatrijski solidni tumori (infiltracija)	 Koštana srž, EDTA, ≥1 mL	Povijest bolesti	Naznačiti vrstu materijala na epruveti i na uputnici Paneli za imunofenotipizaciju se definiraju prema dijagnozi na koju se sumnja	Napisati (radnu) dijagnozu, vrstu materijala i traženu analizu
Imunološki status – imunofenotipizacija limfocita	 Periferna krv, EDTA, 3 mL	KKS od istog dana kada je vađena krv za podskupine limfocita	Naznačiti vrstu materijala na epruveti i na uputnici	Napisati naziv tražene analize: Podskupine limfocita (T+B+NK)
PNH	 Periferna krv, EDTA, 3 mL		Naznačiti vrstu materijala na epruveti i na uputnici	Napisati naziv tražene analize: PNH klon
Trombocitopatije	 Periferna krv, EDTA, 3 mL		Naznačiti vrstu materijala na epruveti i na uputnici	Napisati naziv tražene analize: Trombocitni biljezi
Intersticijske bolesti pluća	 BAL (bronhoalveolarni lavat), spremnik bez antikoagulant		Naznačiti vrstu materijala na epruveti i na uputnici	Napisati naziv tražene analize: Imunofenotipizacija T-limfocita u BAL-u
Imunodeficijencije - proliferacija limfocita	 Periferna krv pacijenta, heparin, 3 mL Periferna krv zdrave kontrole, heparin, 3 mL	KKS od istog dana za pacijenta i kontrolni uzorak	Pretraga se radi isključivo ponedjeljkom i utorkom , potreban prethodni dogovor telefonom	Napisati naziv tražene analize: Proliferacija limfocita
Kronična granulomatозна bolest	 Periferna krv pacijenta, heparin, 3 mL Periferna krv zdrave kontrole, heparin, 3 mL	KKS od istog dana za pacijenta i kontrolni uzorak	Kao zdravu kontrolu uzeti ispitnika s urednim apsolutnim brojem granulocita Potreban prethodni dogovor telefonom	Napisati naziv tražene analize: Respiracijski prask

*broj stanica u uzorku, a ne volumen, uvjetuju mogućnost izrade imunofenotipske analize

preporučuje se kod praćenja slati u istu ustanovu gdje je *de novo* postavljena dijagnoza (u suprotnom slučaju priložiti nalaze imunofenotipizacije od ranije)Svi uzorci se dostavljaju **odmah nakon uzorkovanja - dostavom ili poštom istog dana **do 24h; pretrage funkcijskih testova potrebno unaprijed dogovoriti telefonski**U slučaju **nedoumice** oko vrste uzorka, pretraga ili slanja uzoraka kontaktirati nadležni laboratorij za staničnu imunologiju

Upute suradnim ustanovama za pretrage koje se izvode u citogenetičkom laboratoriju – hematološkog dijagnostičkog laboratorija

Sumnja/Dijagnoza	Uzorak/ volumen	Popratna dokumentacija	Napomena	Sadržaj uputnice
Akutne leukemije / AML, ALL Mijelodisplazija Mijeloproliferativne bolesti KML KLL Ostale hematološke dijagnoze	Za kariogram / FISH analize : koštana srž (KS) > 2mL (heparin liti) * iznimno uzorak može biti periferna krv (PK) uz prethodno kontaktiranje laboratorija * Obavezno na epruveti napisati ime i prezime te vrstu uzorka	Kontaktirati laboratorij za: nalaz citologije imunofenotipizacije ili napisati u kojoj ustanovi će isti biti napravljeni	Panel za AML, ALL, MDS i druge dijagnoze će se napraviti ovisno o nalazima ostalih laboratorija, na traženje hematologa ili prema citogenetičkom nalazu (kariogram, kariotip)	Sumnja na ALL AML, MDS Traži se: - kariogram - FISH - navesti koji panel * napisati vrstu uzorka koji se šalje
Akutne leukemije ALL Mijelodisplazija	Za analizu a-CGH : koštana srž (KS) > 2mL, EDTA * Obavezno na epruveti napisati: ime i prezime, uzorak KS	Kontaktirati laboratorij za: nalaz citologije imunofenotipizacije ili napisati u kojoj ustanovi će isti biti napravljeni	Metoda se radi u potvrđenim dijagnozama – ALL (pri dijagnozi i relapsu), nije prikladna za praćenje minimalne ostatne bolesti	ALL i/ili MDS Traži se: - a-CGH * napisati uzorak koji se šalje (KS)
Multipli mijelom / MM	Za analizu selekcija CD138 koštana srž (KS) > 5mL * KS dobivena biopsijom * ovisno o broju plazma stanica uzeti 2 – 3 epruvete KS (heparin liti) * Uzorak mora biti najavljen laboratoriju, dostaviti do 1h	Kontaktirati laboratorij za: nalaz citologije patohistologije imunofenotipizacije ili napisati u kojoj ustanovi će isti biti napravljeni	Panel za MM prema smjernicama	Sumnja na MM Traži se: CD138 selekcija - kariogram - FISH - panel za MM * napisati vrstu uzorka koji se šalje (biopsija, sternalna punkcija)
Limfomi	Za analizu FISH parafinski rezovi debljina reza 3 µm * 5 preparata, parafinskih rezova * uzorak mora biti najavljen laboratoriju, dostaviti prema dogovoru	Kontaktirati laboratorij za: Nalaz patohistologije ili napisati u kojoj ustanovi će isti biti napravljeni	Kada je zahvaćena KS uzorak se koristi za kariogram i FISH dijagnostiku	Sumnja na limfom Traži se: - FISH parafinski rez - Panel ili cilijana proba

* Sve dostave uzoraka u laboratorij organizirati isključivo **službenom dostavom** bolnica i/ili DHL (neke uzorke potrebno je najaviti)







* Uzorke dostaviti isti dan ili prema dogovoru s laboratorijem

* Uzorci se dostavljaju isključivo s uputnicom na temperaturi 37 °C

* Uzorci staničnih suspenzija za pretragu FISH - kontaktirati laboratorij

* U slučaju bilo kojih nejasnoća kontaktirati citogenetički laboratorij














Upute suradnim ustanovama za pretrage koje se izvode u molekularnom laboratoriju

Sumnja na /Dijagnoza	Uzorak / volumen uzorka	Popratna dokumentacija	Napomena	Sadržaj uputnice	Za praćenje
Akutne leukemije Mijelodisplazije 	Sve analize: koštana srž (> 1mL)	Osnovno iz povijesti bolesti + nalaz citologije /citogenetike/ imunofenotipizacije ili navesti ustanovu u kojoj će iste biti napravljene	Ne postoji „panel PCR analiza“ za AML/ALL/ MDS. Koje analize će se napraviti ovisi o nalazima morfologije, imunofenotipizacije	Sumnja na AL (ALL, AML) ili MDS, molimo molekularnu obradu uzorka.	Koštana srž (>1mL)
Mijeloproliferativne neopla / 	Kvalitativni PCR bcr-abl1: koštana srž (>1mL) Mutacije u genu za JAK2 (V617F, egzon 12), KALRETIKULIN i MPL: 1 velika epruveta (6 mL) periferne krvi ili koštana srž (>1mL)			Napisati naziv tražene analize	/
KML 	Kvantitativni PCR za fuzijski prijepis bcr-abl1: 4 velike epruvete (6mL) periferne krvi Sekvenciranje na mutacije u genu ABL1 – 4 velike epruvete (6mL) periferne krvi	Za novodijagnosticiranu KML dostaviti nalaz o dokazanom fuzijskom prijepisu bcr-abl1 s informacijom o tipu prijevisa (e1a2, b3a2, b2a2... odnosno m-bcr ili M-bcr). Ovo je nužno za izvođenje testa kvantifikacije	Bez znanja o tipu prijevisa pri dijagnozi postoji mogućnost lažno negativnih nalaza	Napisati naziv tražene analize Na uputnici za sekvenciranje navesti i zadnji rezultat kvantitativnog PCR-a	Kvantitativni PCR za fuzijski prijepis bcr-abl1 - 4 velike epruvete (6mL) periferne krvi
Ph+ ALL 	Kvantitativni PCR za fuzijski prijepis bcr-abl1: koštana srž (>1mL)			Napisati naziv tražene analize	Koštana srž (> 1mL)
KLL 	Mutacijski status IgHV: 1 velika epruveta (6mL) periferne krvi		Test nije indiciran pri postavljanju dijagnoze već pri započinjanju ili promjeni načina liječenja	Mutacijski status IgHV	/
Nasljedna trombofilija 	1 velika epruveta (6 mL) periferne krvi			Napisati naziv tražene analize	/

Svi uzorci vade se u **ljubičaste epruvete** (EDTA antikoagulant) i dostavljaju **odmah nakon uzorkovanja** - dostavom ili poštom istog dana **do 12h na hladnom (2-8°C)**, čime se osigurava kvaliteta uzorka te posljedično točan rezultat analize.

U slučaju **nedoumice** oko vrste uzorka, pretraga ili slanja uzorka kontaktirati nadležni molekularni laboratorij

Upute za uzorkovanje i slanje uzoraka za tipizaciju tkiva (Odjel za tipizaciju tkiva Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju KBC Zagreb)

PRETRAGA	VRSTA UZORKA	ANTIKOAGULANT	VOLUMEN	TIP EPRUVETE
TIPIZACIJA HLA BOLESNIKA	periferna krv	EDTA	6mL	
	periferna krv	Li-heparin	6mL	
POTVRDNA TIPIZACIJA HLA BOLESNIKA	periferna krv	EDTA	6mL	
	periferna krv	EDTA	6mL	
TIPIZACIJA HLA SRODNOG DAVATELJA	periferna krv	EDTA	6mL	
	periferna krv	Li-heparin	6mL	
POTVRDNA TIPIZACIJA HLA SRODNOG DAVATELJA	periferna krv	EDTA	6mL	
POTVRDNA TIPIZACIJA HLA NESRODNOG DAVATELJA	periferna krv	EDTA	6mL	
KRIŽNA PROBA HLA	periferna krv primatelja	/	6mL	
	periferna krv davatelja	Li-heparin	6mL	
ODREĐIVANJE PRISUTNOSTI I SPECIFIČNOSTI ANTIHJELA HLA	periferna krv	/	6mL	
	periferna krv	EDTA	6mL	
TIPIZACIJA GENA KIR	periferna krv (ili koštana srž) bolesnika NAKON transplantacije	EDTA	2mL	
	periferna krv bolesnika PRIJE transplantacije	EDTA	2mL	
PRAĆENJE KIMERIZMA	periferna krv davatelja	EDTA	2mL	


Mutacijski status IGHV u bolesnika s KLL-om

Margareta Radić Antolic


Laboratorij za molekularnu hematologiju
 Odjel za laboratorijsku hematologiju i koagulaciju
 Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku
 KBC Zagreb

Neobično nam je drago što vas možemo obavijestiti da je u **Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb** moguće određivati **mutiranost IgH u bolesnika s KLL**. Ova pretraga je ne samo od prognostičkog značenja, već i jedan od uvjeta koji HZZO postavlja za odobravanje liječenja ibrutinibom.

Najava slanja uzorka je obavezna zbog zahtjevne predanalitičke obrade. Sve potrebne informacije o uzorkovanju nalaze se u Uputama za uzorkovanje, a uz odgovarajuću uputnicu je potrebno poslati i Zahtjev za analizu koji je dostupan na web stranici KROHEMA <https://www.krohema.hr/kronicna-limfocitna-leukemija-kll/>



KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR ZAGREB
 KLINIČKI ZAVOD ZA LABORATORIJSKU DIJAGNOSTIKU
 ZAGREB MEDICINSKOG FAKULTETA SVEUČILIŠTA U ZAGREBU



Kišpatićeva 12, Zagreb, Republika Hrvatska Tel: 2367 360

Zahtjev za testiranje mutacijskog statusa IGHV bolesnika s KLL-om

Ime i prezime:

Datum rođenja:

Naziv ustanove u kojoj se liječi:

Hematolog:

Kontakt hematologa koji traži analizu (e-mail, telefon):

Status pacijenta:

a.) neliječeni bolesnik za opservaciju

b.) neliječeni bolesnik za prvu liniju liječenja

c.) kasnije linije liječenja

Citogenetika - rezultat analize:

FISH: a.) u tijeku

b.) del 17p ili del 11q

c.) bez del 17p i del 11q

Ranije određen IGHV mutacijski status:

a.) da

b.) ne

Laboratorijski nalaz datum:

broj leukocita ($\times 10^9/L$): _____

postotak limfocita (%): _____

Hgb : _____ Trc: _____

Potencijalni datumi slanja uzorka (koje dane lokalni laboratorij može poslati uzorke krvi) :



KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR ZAGREB
KLINIČKI ZAVOD ZA LABORATORIJSKU DIJAGNOSTIKU
MEDICINSKOG FAKULTETA SVEUČILIŠTA U ZAGREBU



Upute za uzorkovanje za testiranje mutacijskog statusa IGHV bolesnika s KLL-om

1. Poslati upit za analizu (ispunjen obrazac „Zahtjev za mutacijski status IGHV“) na e-mail kontakata u laboratoriju
2. U skladu s dogovorom pravilno uzorkovati i transportirati uzorak u Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku (Molekularna hematologija) KBC Zagreb

Uzorak za analizu je periferna krv

- ✓ (iznimno koštana srž ili punktat limfnog čvora)
- ✓ uzeta u spremnik s EDTA antikoagulansom (ljubičasti čep)
- ✓ dostavljena na hladnom (4°C) unutar 24h od uzorkovanja

Uzorak mora biti na hladnom (4°C) od uzorkovanja do dostave u laboratorij.

Kontakt osobe: Margareta Radić Antolic

mradicantolic@gmail.com

Ivana Horvat

ivanahorvat13@gmail.com



5. Međunarodni simpozij o kroničnom GvHD-u u Zagrebu i druge aktivnosti Multidisciplinarnog tima

**Dražen Pulanić^{1,2}, Lana Desnica¹, Antonela Lelas¹, Matea Hodonj²,
Zinaida Perić^{1,2}, Nadira Duraković^{1,2}, Ranka Serventi Seiwerth¹,
Radovan Vrhovac^{1,2}, Steven Živko Pavletić³**

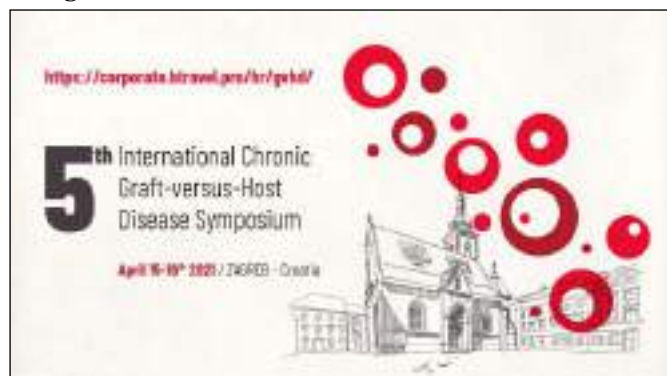
¹ *Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti KBC Zagreb*

² *Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*

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

U Zagrebu je 15. i 16. travnja 2021. održan 5. Međunarodni simpozij o kroničnoj bolesti presatka protiv primatelja (eng. chronic Graft-versus-Host Disease, GvHD), sa 176 sudionika iz 19 država svijeta (iz Europe, SAD-a, Kanade, Azije i Australije) (Slika 1.). Do sada su održana četiri vrlo uspješna međunarodna simpozija o kroničnom GvHD-u u Zagrebu (2013., 2015., 2016. i 2018. godine), a ovaj posljednji 5. simpozij po prvi puta je organiziran isključivo virtualno *on-line* s obzirom na COVID-19 pandemiju.

Slika 1. 5. Međunarodni simpozij o kroničnom GvHD u Zagrebu.



Organizatori 5. Međunarodnog simpozija bili su doc. Dražen Pulanić iz KBC i MEF Zagreb, prof. Steven Živko Pavletić iz američkog NCI/NIH, prof. Daniel Wolff iz Regensburga (Njemačka), prof. Kirk Schultz iz Vancouvera (Kanada) i prof. Radovan Vrhovac iz KBC i MEF Zagreb. Simpozij je otvorio uvodnim riječima doc. Pulanić, nakon čega je prof. Pavletić pojasnio zbog čega je recentno održan 3. NIH konsenzus o kroničnom GvHD-u. Naime, program simpozija je imao pet dijelova, od kojih je prvi dio bio posvećen upravo novostima iz najnovijeg 3. NIH konsenzusa o kroničnom GvHD-u održanom krajem 2020. U tom prvom danu simpozija govorili su najeminentniji inozemni predavači, podijeljeni prema radnim skupinama 3. NIH konsenzusa: a) o

etiologiji i prevenciji cGvHD-a (prof. K. Williams (SAD) i prof. S. Sarantopoulos (SAD), b) o dijagnozi i pre-emptivnoj terapiji cGvHD-a (dr. H. Schoemans (Belgija) i prof. F. Ayuk (Njemačka), c) o liječenju cGvHD-a (prof. H. Greinix (Austrija) i prof. Olivieri (Italija)) te d) o specifičnim oblicima cGvHD-a (prof. D. Wolff (Njemačka), dr. R. Cardones (SAD), prof. A. Bergeron (Francuska), prof. O. Penack (Njemačka) i prof. E. Bilić (KBC i MEF Zagreb).

Drugog dana simpozija, 16. travnja, nakon satelitskih simpozija, program je nastavljen drugim dijelom simpozija posvećen kraćim prikazima najnovijih znanstvenih radova o kroničnom GvHD-u, sa 16 inozemnih i domaćih sudionika. Treći dio simpozija sadržavao je sedam edukativnih prikaza zanimljivih slučajeva iz kliničke prakse, namijenjenih specijalizantima hematologije i mladim hematolozima. Četvrti dio simpozija bio je posvećen bolesnicima s kroničnim GvHD-om. Posljednji peti dio simpozija bio je usmjeren na buduće projekte iz cGvHD-a, gdje su predavali najugledniji međunarodni stručnjaci poput prof. B. Blazara (SAD), prof. K. Schultza (Kanada), prof. Z. DeFilippa (SAD), prof. M. Inngjerdingen (Norveška) i prof. O. Penacka (Njemačka), a panelisti bili prof. H. Greinix (Austrija), prof. R. Duarte (Španjolska), prof. A. Lawitschka (Austrija), prof. N. Kröger (Njemačka), prof. Mohty (Francuska), prof. A. Dickinson (Velika Britanija), dr. sc. M. Grce (Instutu Ruđer Bošković), i drugi. Simpozij je zatvorio prof. Vrhovac, najavljujući planove za šesti cGvHD simpozij, najvjerojatnije za dvije godine. S obzirom da je simpozij održan *on-line*, sva predavanja bila su unaprijed snimljena, dok su rasprave održane u živo, na odlično dizajniranoj i funkcionalnoj virtualnoj platformi koja je omogućavala interakciju predavača, panelista i registriranih sudionika (Slika 2.).

Slika 2. Virtualno (on-line) održani simpozij.

Podsjetimo da je u KBC-u Zagreb 2013. godine formiran Multidisciplinarni tim za liječenje kroničnog GvHD-a i ostalih komplikacija nakon transplantacije krvotvornih matičnih stanica kojeg je vodio prof. Damir Nemet u suradnji s prof. Stevenom Živkom Pavletićem iz američkog NCI/NIH, uz podršku međunarodnog projekta fonda „Jedinstvo uz pomoć znanja“ (engl. *Unity Through Knowledge Fund, UKF*) (2013.-2015. godine). Nakon odlaska prof. Nemetu u mirovinu, od 2016. godine Multidisciplinarni tim vodi doc. Pulanić, a u radu tima danas sudjeluje oko 40 kliničkih i laboratorijskih stručnjaka i znanstvenika različitih specijalnosti, s kontinuiranim uključivanjem novih kolega. Osim standardi-

zacije pristupa oboljelima od cGvHD-a korištenjem najsuvremenijih 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 ožujku 2021. je završen četverogodišnji istraživački projekt Hrvatske zaklade za znanost (Slika 3.) „Novi biomarkeri kronične bolesti presatka protiv primatelja“ (voditelj doc. Pulanić), a članovi tima vrlo aktivno sudjeluju u međunarodnom COST cGvHD Eurograft projektu (od 2018. godine).

Sve navedeno rezultat je uspješnog djelovanja Multidisciplinarnog tima za liječenje kroničnog GvHD-a KBC-a Zagreb, pozicionirajući hrvatsku hematologiju na značajno i međunarodno prepoznatljivo mjesto u ovom važnom području biomedicine.

Slika 3. Logo Hrvatske zaklade za znanost.



Aktivnosti Zaklade KroHema u 2020. – izvrsnost, edukacija, znanost

Prof. dr. sc. Damir Nemet

Upravitelj Zaklade KroHema

GODIŠNJA NAGRADA ZAKLADE KroHema

Zaklada KroHema je i u 2020. godini dodijelila Godišnju nagradu za izvrsnost i najbolja postignuća u znanstvenom i stručnom radu u području hematologije u Hrvatskoj.

Članovi Povjerenstva za dodjelu Nagrade bili su:

Prof.dr.sc. Antica Duletić Načinović

Prof.dr.sc. Branimir Jakšić

Prof.dr.sc. Nives Jonjić

Prof.dr.sc. Damir Nemet

Prof.dr.sc. Slobodanka Ostojić Kolonić

Za izuzetan doprinos unaprijeđenju liječenja bolesnika s hematološkim bolestima, uvođenju novih metoda liječenja te poticanju i stvaranju temelja za nova znanstvena istraživanja u hematologiji Godišnja nagrada Zaklade dodijeljena je prof.dr.sc. Igoru Aureru i Timu za liječenje CAR-T stanicama Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

Obrazloženje:

18.11.2019. godine KBC Zagreb je kao prva ustanova u ovom dijelu svijeta dobio ovlaštenje za primjenu CAR-T stanica. Iza toga stoje mjeseci napora članova multidisciplinarnog Tima za liječenje CAR-T stanicama koji su morali stvoriti uvjete, a potom dokazati da su Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti, Zavod za hematologiju i onkologiju Klinike za dječje bolesti i Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju KBC Zagreb u stanju primjenjivati ovu metodu liječenja na siguran, kvalitetan i transparentan način. 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. Mogućnost da se ovaj oblik liječenja primjenjuje i u Hrvatskoj ukazuje na visoku razinu naše medicine, posebice hematologije, na što možemo s pravom biti ponosni.

Obzirom na znanstvenu i stručnu važnost ove metode, Hrvatsko društvo za hematologiju Hrvatskog liječničkog zbora predložilo je Tim za liječenje CAR-T stanicama KBC Zagreb, čiji je voditelj prof. dr. Igor Aurer, za Godišnju nagradu Zaklade KroHema u 2020. godini.

Znanstveni i stručni doprinos:

Liječenje CAR-T stanicama je nova metoda stanične terapije koja je prošlih nekoliko godina doživjela eksplozivni rast o čemu svjedoči vrlo velik broj objavljenih radova i priopćenja na stručnim i znanstvenim hematološkim skupinama kao i velik interes bolesnika i centara. Radi se o složenom terapijskom postupku koji zahtijeva preciznu koordinaciju stručnjaka razli-



TIM KLINIČKOG BOLNIČKOG CENTRA ZAGREB ZA LIJEČENJE CAR-T STANICAMA

- Voditelj: Prof. dr. Igor Aurer
- Koordinator: bacc.med.tech. Dijana Šantaloš
- Tim za liječenje limfoma (DLBCL): Prim. dr. Sandra Bečić-Krišto, dr. Dino Dujnović, dr. Josip Bečić, Ana Šepak, bacc. med.tech. Vesna Družić, mag. med.tech.
- Tim za liječenje odraslih bolesnika s akutnom limfoblastičnom leukemijom (ALL): Prof. dr. Radoslav Vrhovac, prof. dr. Nadira Duraković, doc. dr. Zrinka Perić, dr. Lana Grnović, Nurka Ruzić, bacc. med.tech.
- Tim za liječenje djece s akutnom limfoblastičnom leukemijom (ALL): Prof. dr. sc. Erved Bilo, dr. Maja Pavlović, dr. Luiza Mucanec, dr. Rina Dugarević-Bekić, dr. Tina Matić, VMS Natasa Vukojić i VMS Miroslava Kratj
- Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju: Doc. dr. Ines Bapantić, doc. dr. Branka Golobčič-Opatić
- Tim berbe stanica: bacc.med.tech.diag. Tanja Filipčić, bacc.med.tech.diag. Zorica Resačević, bacc.med.tech.diag. Barbara Karov, bacc.med.tech.diag. Kristijan Rukavina
- Tim Osigje za sferizu: Mag.med.tech. Marijana Berićević Lokar, bacc.med.tech. Peter Štrnjaj, bacc.med.tech. Orela Čogdjan, bacc.med.tech. Elma Horvat

čitih zdravstvenih struka, pažljiv nadzor i vrhunsku skrb bolesnika kako bi se mogao primjenjivati sigurno i učinkovito. Zbog toga samo ograničen broj centara u Europi ima ovlaštenje za primjenu ove terapije. Tim za liječenje CAR-T stanicama KBC Zagreb uspio se izboriti da se ova metoda može primjenjivati u nas što predstavlja značajan doprinos liječenju bolesnika s uznapredovalim limfocitnim tumorima i omogućuje da hrvatska hematologija i dalje ostane u svjetskom vrhu.

Utjecaj na znanost i struku i održivost:

Uvođenje terapije CAR-T stanicama daje novu nadu i omogućuje izlječenje dijelu bolesnika s B-velikostaničnim limfomom ili akutnom limfoblastičnom leukemijom za koje do sada više nije bilo nade. Osim toga, uvođenje ove metode predstavlja novi proboj u razvoju transplantacijske hematologije i stanične terapije, što će dovesti do povećanja kvalitete i opsega znanstvenog i stručnog rada, ne samo u hematologiji, već i u suradnim strukama, na sličan način kao što se dogodilo ranije, nakon uvođenja metoda transplantacije alogeničnih i autolognih matičnih krvotvornih stanica.

Nagrada je dodijeljena u obliku:

- Plakete i diplome
- Novčanog iznosa od 40.000,00 kn

Stipendije za doktorske studije

Zaklada je također ponovno raspisala Natječaj za dodjelu stipendija za doktorske studije iz područja biomedicine i zdravstva za kandidate koji doktoriraju s temama u području hematologije na medicinskim i srodnim fakultetima u Republici Hrvatskoj za akademsku godinu 2020/2021.

Povjerenstvo Zaklade 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 razmotrilo je prijave te su stipendije za školarine doktorskog studija dodijeljene:

Davoru Galušiću iz KBC Split, studentu doktorskog studija Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu;

Hrvoju Holiku iz Opće bolnice dr. Josip Benčević u Slavanskom Brodu, studentu doktorskog studija Medicinskog fakulteta Sveučilišta J.J. Strossmayer u Osijeku;

Katarini Horvat Pavlov iz KB Merkur u Zagrebu, studentici doktorskog studija Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu;

Antoneli Lelas iz KBC Zagreb, studentici doktorskog studija Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu;

Ani Zelić Kerep iz KBC Zagreb, studentici doktorskog studija Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Financiranje znanstvenih istraživačkih projekata u području hematologije

Zaklada je i u 2020. raspisala Natječaj za financiranje istraživačkih projekata u području hematologije. Povjerenstvo Zaklade sastavljeno od pet recenzenata u sastavu: prof. dr. sc. Slavko Gašparov, prof.dr.sc. Branimir Jakšić, prof.dr.sc. Rajko Kušec, prof.dr.sc. Boris Labar i prof.dr.sc. Damir Nemet razmotrilo je pristigle prijave te je na temelju njihova mišljenja Upravno vijeće Zaklade donijelo odluku o financiranju slijedeća četiri znanstvena projekta:

1. Voditeljica projekta **Klara Dubravčić** iz KBC Zagreb: Analiza normalnih i neoplastičnih B-stanica kao surogata učinkovitosti ciljane anti-CD19 imunoterapije u bolesnika s B-prekursorskom akutnom limfoblastičnom leukemijom i difuznim B-velikostaničnim limfomom
Financijska potpora u iznosu od 65.000,00 kuna.
2. Voditeljica projekta **Nadira Duraković** iz KBC Zagreb: Stanični sastav transplantata koštane srži obzirom na primjenu filgrastima u darivatelja
Financijska potpora u iznosu od 40.000,00 kuna.
3. Voditelj projekta **Marko Lucijanić** iz KB Dubrava: Gubitak mišićne mase u bolesnika s difuznim B velikostaničnim limfomom liječenih imunokemoterapijom
Financijska potpora u iznosu od 33.656,00 kuna.
4. Voditeljica projekta **Zinaida Perić** iz KBC Zagreb: Wilms tumor1 (WT1) gen u funkciji praćenja minimalne ostatne bolesti u bolesnika s akutnom mijeloidnom leukemijom nakon alogenične transplantacije krvotvornih matičnih stanica
Financijska potpora u iznosu od 60.423,60 kuna.

Vjerujemo da je opisanim aktivnostima Zaklada KroHema u 2020. značajno djelovala i ispunila svoju zadaću u poticanju izvrsnosti nagrađivanjem znanstvenih i stručnih postignuća u hrvatskog hematologiji, poticanju edukacije i napredovanja mladih hematologa u znanstvenom napredovanju te poticanju znanstvenih istraživanja u području hematologije u Hrvatskoj, posebice uvođenjem mladih znanstvenika u istraživački proces.



In memoriam

izv. prof. prim. dr. sc. GORANA ARALICA, dr. med.

(22. veljače 1972. – 3. prosinca 2020.)

Tijekom petka, 3. prosinca 2020. godine, saznali smo tužnu vijest da nas je nakon kratke i teške bolesti zauvijek napustila profesorica Gorana Aralica, doktorica medicine, viša znanstvena suradnica, mentorica i predstojnica Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KB Dubrava, a prije svega naša draga kolegica koja će nam ostati zauvijek u lijepom sjećanju.

Izv. prof. dr. sc. Gorana Aralica je rođena 22. veljače 1972. godine u Osijeku gdje je završila osnovnu i srednju školu matematičko-informatičkog smjera te paralelno i srednju glazbenu školu. Šestogodišnji program Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu je završila u roku te je promovirana u srpnju 1996. Obavezni liječnički staž odradila je kao liječnik-volonter u Domu zdravlja Maksimir. Kao znanstveni novak radila je do 2001. godine na znanstvenom projektu pri Katedri za farmakologiju MF Sveučilišta u Zagrebu, a iste godine započela je specijalizaciju iz Patologije u KB Dubrava. Od 2011. do 2013. godine obnašala je dužnost pročelnice Kliničke jedinice za patologiju probavnog sustava Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju. Od 2018. godine do svoje prerane smrti bila je na dužnosti Predstojnice istog zavoda, a od 2019. godine i voditeljica Specijalističkog stručnog poslijediplomskog studija Patologija i citologija na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Paralelno sa svojim stručnim, radi vrlo predano i na svojem znanstvenom usavršavanju i napredovanju. Nakon završenog poslijediplomskog znanstvenog studija „Biomedicina“ i obranjenog rada 2001. godine, stekla je stupanj magistra prirodnih znanosti na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Na istom je fakultetu obranila svoju doktorsku disertaciju u srpnju 2008. godine te nakon toga postaje asistent u kumulativnom radnom odnosu pri Katedri za patologiju, a već od 2009. godine radi kao viši asistent. Od 2013. godine je docent, a krajem 2020. godine izabrana je za izvanrednu profesoricu iste katedre.

Kao autor ili koautor objavila je više od 40 znanstvenih i stručnih radova, ima više od 60 kongresnih priopćenja, više pozvanih predavanja, a koau-

tor je poglavlja u nekoliko udžbenika. Uža područja interesa prof. Aralice bila su **patologija gastrointestinalnog trakta** te **hematopatologija**. Nakon edukacije, koju je provela na Institutu za patologiju Univerzitetske bolnice u Baselu pod mentorstvom profesora Stephana Dirnhofera i profesora Alexandra Tzankova, uvela je, zajedno s jednom od svojih najbližih suradnica prim. dr. sc. Čedom Tomasić Lončarić, rutinsku dijagnostiku iz područja hematopatologije u KB Dubrava. Kao članica Europskog udruženja hematopatologa (EAHP) redovito je aktivno sudjelovala na sastancima ovog udruženja, kao i na sastancima Europske radne grupe za koštanu srž (EBMWG).

Gorana je iskreno voljela svoj posao, radovala se sastancima Hematopatološke sekcije gdje je vrlo često prezentirala interesantne i komplicirane slučajeve iz svakodnevne prakse. Kao vrlo aktivna članica radne grupe Hematopatologije sudjelovala je u radu Hrvatske kooperativne udruge za hematološke bolesti (KROHEM) čijim sastancima se iznimno veselila.

Smatram osobnom srećom što sam poznao Goranu i surađivao s njom jer je prije svega bila iskrena i draga osoba, uvijek spremna na rješavanje problema kompromisom, bez nepotrebnih sukoba i uvijek spremna svima pomoći. Osim što je radila na unaprjeđenju patologije kao struke, gdje se naročito zalagala za usku suradnju sa svojim kliničarima, rad sa studentima je također bio dio njenog posla kojem se u potpunosti posvetila te je studente smatrala ravnopravnim kolegama.

Tijekom svojeg prekratkog života profesionalno je jako puno napravila i zbog toga je bila zadovoljna, kao što mi je i sama rekla, ipak je njena najveća sreća i uspjeh bila njena obitelj, suprug Josip, kćerka Lucija i sin Jakov koje je obožavala.

Svima nama ostat će zauvijek u lijepom sjećanju i zahvalni smo što smo mogli biti barem jedno kratko vrijeme dio njenoga života.

U ime radne skupine Hematopatologija
Slavko Gašparov



In memoriam

Davorka Dušek

(5. listopada 1980. – 29. studeni 2020.)

29. studenog izgubili smo predivnog čovjeka i stručnjaka, doktoricu Davorku Dušek.

Doktorica Dušek rođena je u Zagrebu 5. listopada 1980. pohađala je II gimnaziju, završila Medicinski fakultet 2005. godine s Dekanovom nagradom kao najbolji student šeste godine. Željela je postati infektolog i puna entuzijazma počela raditi u Klinici za infektivne bolesti, prvo kao znanstveni novak, a od 2007. postaje specijalizant infektologije, specijalistički ispit položila je 2012. godine i od tada radi u Zavodu za virusni hepatitis, a od 2015. godine postaje asistent na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Svoj posao infektologa obavlja s veseljem i ljubavlju, pokazuje neopisivu empatiju prema pacijentima, krajnje je požrtvovna i posvećena svakom pacijentu, svaki problem rješava temeljito, predano i do kraja. Najvažnije u njenom poslu bila je briga za pacijente. Stekla je tako brojne prijatelje među kolegama iz drugih ustanova s kojima je surađivala za dobrobit pacijenata, ali i sama je uvijek bila spremna dati savjet, porazgovarati s liječnicima i pacijentima. Zdušno je radila i sa studentima, uvodila ih u tajne infektologije. Boravila je tri mjeseca u Americi u Nacionalnom institutu za zdravlje u Bethesda, gdje se usavršavala iz područja infekcija u hematoloških pacijenata na poziv profesora Živka Pavletića 2009. godine. Nakon toga stalni je član povjerenstva za cGVHD na KBC-u Zagreb. Objavila je 20 radova u časopisima indeksiranim u bazama PubMed i Scopus.

Godine 2015. postaje tajnica infektološke sekcije UEMS-a i brzo stječe velika prijateljstva i ugled, a svojim blagim i nasmiješenim pristupom otvara srca i duše brojnih europskih kolega. Tijekom te suradnje nastao je važan rad vezan uz razvoj specijalizacije iz infektologije i mikrobiologije u EU: Yusuf, E., Ong, D. S., Martin-Quiros, A., Skevaki, C., Cortez, J., Dedić, K., Maraolo, A. E., Dušek, D., Maver, P. J., Sanguinetti, M., Tacconelli, E., & Trainee Association of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) (2017). *A large survey among European trainees in clinical microbiology and infectious disease on training systems and training adequacy: identifying the gaps*

and suggesting improvements. Europ J Clinl Microbiol Infect Dis 2017; 36:233–242.

Uspješno surađuje s kolegama iz EU-a na izradi zajedničkog pismenog ispita iz infektologije, zadnji webinar moderira 28.11. u 18 sati.

Godine 2012. i 2013. renoviramo Zavod za virusni hepatitis, promišljamo budućnost i moguću ugrozu od visokozaraznih bolesti, prilagođavamo odjel u Jedinicu za striktnu izolaciju, s novim zasebnim dizalom koje bolesnike dovodi izravno na balkonski ulaz u obnovljene dvokrevetne sobe s dovodom kisika i zasebnim sanitarnim čvorom.

Doktorica Dušek zdušno sudjeluju u razradi protokola za prihvata pacijenata oboljelih od ebole, MERS-a, SARS-a i drugih, tada neidentificiranih prijetnji. Educira brojne kolege u primjeni osobne zaštitne opreme. Educira kolege kako da naprave improvizirane odjele za izolaciju, brojni ju zovu za savjet i ona uvijek nesebično pomaže, bez obzira na radno vrijeme. Prva ulazi pregledati bolesnike sa sumnjom na MERS, a 25.2.2020. prva ulazi pregledati prvog pacijenta pozitivnog na koronavirus (SARS-CoV-2).

Otad u kontinuitetu, do 28.11. radi s bolesnicima s COVID-19 bolesti, na raznim radilištima Klinike, od koronaodjela, opservacijskih kontejnera do kontejnera za trijažu. Počinje se, između redaka žaliti na umor i zasićenost, ali posao ne pita, pandemija ne pita, kolege ne pitaju, nemaš COVID-19, radiš dalje. Važno je posložiti prenapeti raspored. A ona ponosno ne traži pomoć, ne traži odmor, a nije bila ni u jednoj samoizolaciji, nije iskoristila nijedan *time-out*.

I tako, u trenu Davorka Dušek nestaje... U ponedjeljak dolazimo na posao, a doktorice Dušek više nema. Nismo uopće svjesni veličine gubitka. Izgubili smo jedinstvenu osobu koja je svoj mladi život posvetila bolesnicima i prijateljima. Pitanje je možemo li i želimo li nešto naučiti iz ove životne priče.

Počivala u miru Davorka Dušek!

29.11. u našim će srcima biti dan sjećanja na Davorku i ljudsku dobrotu.

Adriana Vince

