

# Bilten Krohema

Glasilno Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti Krohem

**Nove smjernice za multipli mijelom**

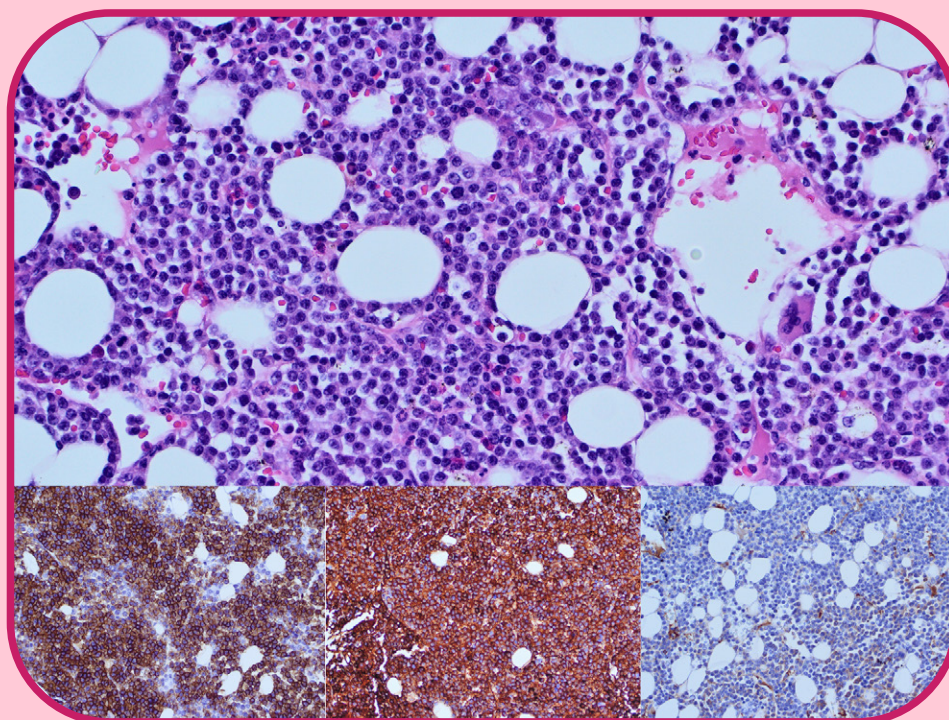
**Nove smjernice za mijelofibrozu**

**Nove smjernice za AML**

**Promjene limfomskog konsenzusa**

**Kongenitalne neutropenije**

**Novi Pravilnik o postupku provođenja, objavljivanja rezultata i autorstvu radova Krohema**



**Volumen 16., Broj 2.**

**Krohema**

## **Impresum**

Bilten Krohema  
Glasilo Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti Krohem  
Volumen 16., Broj 2., studeni 2024.

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:**

Davor Galušić, Ivan Krečak, Inga Mandac Smoljanović, Zinaida Perić, Vlatka Periša, Mario Piršić

### **Tajnica Krohema:**

Dijana Perčin

### **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](mailto:dpulanic@yahoo.com).  
Objavljeni tekstovi predstavljaju stav autora i Uredništvo se ne mora slagati s iznesenim mišljenjima.

Svi dosadašnji brojevi Biltena Krohema u potpunosti su dostupni su na web stranicama Krohema:  
[www.krohema.hr](http://www.krohema.hr)

### **Opis slika na naslovnici:**

Koštana srž infiltrirana stanicama multiplog mijeloma s ekspresijom kappa lakih lanaca.  
Slika HE i slike imunohistokemijskih bojenja CD138, kappa laki lanci i lambda laki lanci,  
priređeno ljubaznošću izv. prof. dr. sc. Ivane Ilić, KBC Zagreb.

# Sadržaj

<b>Igor Aurer:</b> Uvodnik .....	2
<b>Maja Pučić, Marijo Vodanović, David Zima, Ernest Bilić:</b> Kongenitalne neutropenije .....	3
<b>Jelena Roganović, Paolo Salamon:</b> Primjena eritropoetina u anemiji nedonoščadi .....	19
<b>Igor Aurer:</b> Promjene limfomskog konsenzusa .....	22
<b>Sandra Bašić-Kinda, Josip Batinić, Toni Valković, Dražen Pulanić, Delfa Radić-Krišto, Jasminka Sinčić-Petričević, Mario Piršić, Goran Rinčić, Davor Galušić:</b> Nove Hrvatske smjernice za liječenje bolesnika s multiplim mijelomom i srodnim bolestima plazma stanica – 2024. godina .....	23
<b>Martina Bogeljić Patekar, Slobodanka Ostojić Kolonić, Delfa Radić-Krišto, Sandra Bašić-Kinda, Inga Mandac Smoljanović:</b> Liječenje koštane bolesti u multiplom mijelomu .....	31
<b>Mirta Mikulić, Pavle Rončević, Nadira Duraković, Ranka Serventi Seiwert:</b> Sažetak novih Hrvatskih smjernica za liječenje akutne mijeloidne leukemije – 2024. godina .....	37
<b>David Šarčević, Ivan Zekanović, Martina Morić Perić, Hrvoje Holik, Božena Coha, Marko Skelin, Ivan Krečak:</b> Ishodi liječenja AML u županijskim bolnicama Republike Hrvatske .....	39
<b>Marko Lucijanić, Dubravka Čaržavec, Davor Galušić, Dragana Grohovac, Hrvoje Holik, Ivan Krečak, Marin Kursar, Marko Martinović, Martina Morić Perić, Vlatka Periša, Jasminka Sinčić-Petričević, Ranka Serventi-Seiwert, Pavle Rončević, Josipa Vlasac Glasnović, Renata Zadro, Rajko Kušec:</b> Hrvatske smjernice za dijagnostiku i liječenje primarne i sekundarne mijelofibroze, Radna skupina Krohema za Ph-negativne MPN - 2024. godina .....	43
<b>Zdravko Mitrović, Marijo Vodanović, Petra Berneš, Hrvoje Holik, Dragana Grohovac, Branimir Barišić, Ivan Krečak, Renata Babok Flegarić, Ante Dobričić, Dubravka Čaržavec, Inga Mandac Smoljanović, Jasminka Sinčić Petričević, Mirela Rao, Ana Boban, Dražen Pulanić:</b> Evansov sindrom - Krohemova studija .....	48
<b>Mirela Raos, Dražen Pulanić:</b> DAT-negativna autoimunosna hemolitička anemija .....	50
<b>Dražen Pulanić:</b> Četvrti sastanak Radne skupine za benigne hematološke bolesti Krohema, Brijuni, rujan 2024. ....	51
<b>Ivana Ilić:</b> 22. sastanak Europskog društva za hematopatologiju, Dubrovnik, rujan 2024. ....	52
<b>Dražen Pulanić:</b> 7. Međunarodni simpozij o kroničnoj bolesti presatka protiv primatelja u Vancouveru, listopad 2024. ...	54
<b>Vlatka Periša:</b> Kalendar predstojećih hematoloških skupova .....	56
Pravilnik o postupku provođenja, objavljivanja rezultata i autorstvu radova Krohema .....	58
Obrazac za prijedlog istraživanja .....	60

## Uvodnik

Drage Krohemovke, Krohemovci i ostali čitatelji Biltena,

približio nam se jesenski sastanak koji će se ponovno, nakon pet godina, održati u Vinkovcima. Zbog velikog zanimanja za naše sastanke postalo je praktički nemoguće naći mjesto u kontinentalnom dijelu Hrvatske koje ima dovoljno veliki hotel da nas primi, a u kome već nismo bili. No Vinkovci, kao i cijela istočna Slavonija, su prekrasni i imaju odličan i vrlo zanimljiv muzej, tako da sam uvjeren da nećemo zbog toga zažaliti. Naposljetku, to je grad u kojem su rođena čak dva rimska cara, dvaput više nego u Splitu!

Proljetni sastanak u Trogiru bio je odlično posjećen. Naučili smo nešto novo, mene je najviše zaintrigirao prikaz bolesnika sa stečenom hemofilijom C, uspješno odradili godišnju skupštinu, usvojili novi „Pravilnik o postupku provođenja, objavljivanja rezultata i autorstvu radova“, izmijenili nekoliko terapijskih preporuka, družili se i imali priliku vidjeti fascinantan stari dio Trogira. Poseban užitak bila je večera u petak za što je najveće zasluge imao dr. Dobričić!

Otada je prošlo skoro šest mjeseci. U međuvremenu je održan uspješan i produktivan sastanak Radne skupine za benigne hematološke bolesti. Krohem je potpomogao organizaciju i sudjelovanje naših članova na Europskom hematopatološkom kongresu u Dubrovniku, najvećem svjetskom događaju takve vrste. Koliko čujemo od kolega iz Radne skupine za hematopatologiju, sastanak je bio u svakom pogledu vrlo uspješan i dodatno učvrstio ugled naše hematopatologije u svijetu. Krajem rujna je u Zagrebu održana odlično posjećena radionica Međunarodnog društva za trombozu i hemostazu (ISTH) o poremećajima hemostaze. Sva ta međunarodna aktivnost

je rezultirala i neočekivanim ishodima. Tako smo doživjeli da se Krohemu na pomoći u organizaciji 7. međunarodnog simpozija o kroničnom GvHD-u, koji se održao u Vancouveru u listopadu 2024. godine, zahvaljuju predsjednik vlade Kanade, g. J.J. Trudeauu, i gradonačelnik Vancouvera, g. K. Sim!

Dobro raspoloženje je izgleda zahvatilo i Povjerenstvo za lijekove HZZO-a pa na nove liste lijekova stižu dugo očekivani pripravci, poput blinatumumaba, a za druge, poput daratumumaba i polatuzumab vedotina se šire indikacije. S druge strane, ima sve više administrativnih zahtjeva na nas, poput ispunjavanja ePSL obrazaca (a prijete nam se i s uvođenjem nekoliko posebnih registara za zloćudne bolesti financiranih od strane EU). Na sreću, izgleda da je barem dio ustanova shvatio da ispunjavanja raznoraznih obrazaca nije posao zdravstvenih djelatnika i počeo ga prebacivati na administraciju. Medicinskih sestara i tehničara i dalje nedostaje, u tri najveće zagrebačke bolnice i dalje se izvode građevinski radovi, ali smo, tijekom pregovora o koeficijentima plaća, uspjeli spriječiti da hematolozi budu proglašeni drugorazrednim liječnicima pa makar po cijenu toga da voditelji odjela nemaju plaću veću od onih kojima su nadređeni.

Možda sve to frustrira neke mlađe kolege, no mi stariji smo na to navikli i pitanje je bismo li se snašli da najednom sve krene funkcionirati kao po loju. Možda nam onda naši sastanci ne bi bili toliko zanimljivi jer na što bismo se žalili jedni drugima? Ovako, opet imamo razloga da se okupimo, družimo i naučimo nešto novo!

Do skorog viđenja u Vinkovcima sve vas pozdravlja vaš predsjednik

Prof. dr. Igor Aurer

## Kongenitalne neutropenije

Maja Pučić<sup>1</sup>, Marijo Vodanović<sup>2</sup>, David Zima<sup>3</sup>, Ernest Bilić<sup>1,3</sup>

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

<sup>2</sup> Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC Zagreb

<sup>3</sup> Zavod za pedijatrijsku hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju KBC Zagreb

Neutropenije su česta pojava u dječjoj dobi. Velika većina je prolazna, bez potrebe za nekom intervencijom. Dio kongenitalnih neutropenija se zbog ozbiljnosti kliničke slike očituje odmah po rođenju, a dio zbog varijabilne ekspresije i penetracije gena prepoznata se znatno kasnije. Ovaj tekst je napisan u svrhu rasvjetljivanja prvenstveno blažih oblika kongenitalnih neutropenija, koje mogu ostati nedijagnosticirane i u starijoj dobi.

Kongenitalne neutropenije (KN) su skupina rijetkih genetskih bolesti karakteriziranih poremećajem u proizvodnji, diferencijaciji i preživljenju neutrofila u koštanoj srži, sklonošću infekcijama i povećanoj vjerojatnosti za MDS/AML transformaciju (1,2). Radi se o heterogenoj skupini bolesti uzrokovanih mutacijama u genima koji kodiraju proteine uključene u sazrijevanje, promet i homeostazu mijeloidne loze, a nasljeđuju se kao X-vezane, autosomno dominantne ili autosomno recesivne (3,4). U literaturi se pojam „kongenitalna neutropenija“ ne koristi jednoznačno. U nekim radovima taj pojam obuhvaća isključivo oblike kongenitalnih neutropenija koje nisu povezane s drugim imunološkim ili ekstrahepatološkim abnormalnostima, dok u drugim obuhvaća sve entitete koji uz kroničnu neutropeniju mogu imati i poremećaje u različitim sustavima. **Teška kongenitalna neutropenija (TKN)** označava grupu rijetkih genetski heterogenih nasljednih poremećaja hematopoeze karakteriziranih zastojeom u neutrofilnoj diferencijaciji u koštanoj srži koji rezultira apsolutnim brojem neutrofila u perifernoj krvi (ABN) manjim od  $0.5 \times 10^9/L$  (5,6). Kod većine dolazi do zastoja maturacije u stadiju promijelocita što se uz neutropeniju, očituje povećanim brojem atipičnih promijelocita (5,7). Broj monocita je u teškoj kongenitalnoj neutropeniji povišen što ukazuje na recipročnu vezu između proizvodnje ovih dvaju tipova stanica (8), a moguće je vidjeti i hipereozinofiliju i hipergamaglobulinemiju (9). Pacijenti s teškom kongenitalnom neutropenijom imaju povećan rizik za razvoj po život opasnih infekcija i povećan rizik za progresiju u mijelodisplastični sindrom (MDS) ili akutnu leukemiju, obično mijeloidnog tipa (3,10). Povećan rizik za malignu transformaciju objašnjava

se postojanjem podležee genetske nestabilnosti kao zajedničke karakteristike svih tipova kongenitalnih neutropenija (7). Dokazano je da u većine pacijenata malignoj transformaciji prethode molekularne promjene koje uključuju stečene mutacije pojedinih gena uključenih u proces leukemogeneze (5). Najčešći uzrok kongenitalnih neutropenija je autosomno dominantna mutacija gena ELANE koji kodira enzim neutrofilnu elastazu te mutacija u genu HAX1 čiji proteinski produkt pridonosi aktivaciji GCS-F signalnog puta, a nasljeđuje se autosomno recesivno (5). Sve širom primjenom novih molekularnih metoda i “metode sljedeće generacije” (*engl. Next Generation Sequencing*) u dijagnostici neutropenija još uvijek raste broj identificiranih gena uzročno povezanih s razvojem kongenitalnih neutropenija, ali postoji i velik broj pacijenata s još nedefiniranim genetskim uzrokom (4,6,11). To se objašnjava pretpostavkom da neke od njih ne nastaju na monogenetskoj osnovi što je bilo prihvaćeno stajalište tijekom niza godina, već kao posljedica djelovanja nekoliko gena (4,12). Najnoviji identificirani genetski uzroci nastanka kongenitalnih neutropenija su mutacija u genu CLPB (kodira za protein koji sudjeluje u regulaciji funkcije mitohondrija), SEC61A1 (kodira za protein uključen u homeostazu kalcija i transport proteina u ER) te SRP54 (kodira za protein koji je dio ribonukleoproteinskog kompleksa uključenog u translokaciju polipeptida na površinu ER) (6,13,14).

### Epidemiologija

Teške kongenitalne neutropenije su rijetka stanja s procijenjenom prevalencijom od 3-8.5 slučajeva na milijun pojedinaca. Čini se da su mutacije koje se nasljeđuju autosomno dominantno češći uzroci dok se autosomno recesivne mutacije uglavnom dijagnosticiraju pri postojanja kosangviniteta u obitelji. Demografska obilježja igraju važnu ulogu u prevalenciji pojedinih mutacija u različitim dijelovima svijeta (5). Za razliku od SAD-a, prevalencija HAX1 mutacije kao uzroka teške kongenitalne neutropenije je u Europi visoka (11% teških kongenitalnih neutropenija) što se uglavnom povezuje s postojanjem velikog broja konsangvinih obitelji turskog i arapskog

porijekla. U Izraelu je uočena velika prevalencija mutacija u genu G6PC3 od čak 25% (5,15).

### Klasifikacija

Nadopunjavanjem saznanja o molekularnoj pozadini pojedinih formi kongenitalnih neutropenija, klasifikacije kongenitalnih neutropenija mijenjale su se tijekom godina (9). Sve do kasnih 1990-ih literatura je razlikovala cikličku neutropeniju povezanu s tipičnim obrascem promjene u broju neutrofila i autosomno dominantnim naslijeđem od permanentne neutropenije koja se smatrala sinonimom za tešku kongenitalnu neutropeniju ili Kostamann sindrom (9,16). Identifikacija mutacija ELANE gena za neutrofilnu elastazu 1999. godine kod pacijenata s cikličkom neutropenijom i ubrzo nakon toga pronalazak mutacije istog gena kod mnoštva pacijenata s teškom kongenitalnom neutropenijom, bili su ključni za svrstavanje cikličke neutropenije u skupi-

nu kongenitalnih neutropenija (17,18). Kongenitalne neutropenije mogu se klasificirati s obzirom na mutirane gene identificirane kao odgovorne za podtipove ovih poremećaja (Tablica 1.) (1). Subklasifikacija se može raditi i ovisno o tom radi li se o izoliranoj neutropeniji ili je ona povezana s mutacijama gena koji se osim kongenitalnom neutropenijom očituju poremećajima imunološkog sustava (npr. mutacije STK4, CXCR4, ADA2, LYST), metaboličkim poremećajima (npr. mutacije SLC37A4/G6PT1, TCN2), različitim ekstrahematološkim manifestacijama (npr. mutacije TAZ, G6PC3, GF1, HAX, JAGN1, TCIRG1) ili se pojavljuju kao dio sindroma zatajenja koštane srži (npr. mutacije SBDS, SRP54, GATA1) (1,3,9). U skupinu izoliranih kongenitalnih neutropenija ubrajaju se ciklička neutropenija i teške kongenitalne neutropenije uzrokovane mutacijama u genima ELANE, CSF3R, CXCR2 i WAS koje se ne očituju nikakvim ekstrahematološkim simptomima (1).

**Tablica 1. Klasifikacija kongenitalnih neutropenija. Modificirano prema (1).**

Klasifikacija kongenitalnih neutropenija			
Kongenitalne neutropenije	Uključeni geni	Tip nasljeđivanja	Glavne značajke/napomene
<b>Izolirane</b>			
<b>Teška kongenitalna neutropenija</b>	ELANE	AD	Zaustavljanje sazrijevanja neutrofila u koštanoj srži
	CSF3R	AD	Zaustavljanje sazrijevanja neutrofila u koštanoj srži, ne odgovora na G-CSF
	CXCR2	AR	Nema zaustavljanja sazrijevanja i mijelokateksije
	WAS dobitak funkcije	X-vezano	(WASp-XLN) Kašnjenje sazrijevanja, monocitopenija
<b>Ciklička neutropenija</b>	ELANE	AD	Povremeno/ciklički narušena diferencijacija
<b>Povezane s različitim ekstrahematološkim manifestacijama</b>			
<b>Barthov sindrom</b>	TAZ	X-vezano	Nema zaustavljanja sazrijevanja, hipertrofična kardiomiopatija, miopatski sindrom
<b>Charcot-Marie-Tooth neuropatija tip B</b>	DNM2	AD	Slabost i atrofija mišića distalnih ekstremiteta zbog periferne neuropatije
<b>Cohenov sindrom</b>	VPS13B	AR	Nema zaustavljanja sazrijevanja, psihomotorni poremećaji, mikrocefalija, specifična obilježja lica, hipotonija, labavost zglobova, progresivna retinokoroidalna distrofija, miopija
<b>G6PC3 mutacija</b>	G6PC3	AR	Hiperelastičnost kože i izražen površinski venski crtež, kongenitalna srčana bolest, aritmije, uropatija, kriptorhizam, egzokrina disfunkcija gušterače

<b>GFI1 mutacija</b>	GFI1	AD	Ponekad zaustavljanje sazrijevanja, limfopenija, povećan broj nezrelih mijeloidnih stanica u perifernoj krvi, defekt unutarnjeg uha
<b>HYOU1 deficijencija</b>	HYOU1	AR	Hipoglikemija i upalne komplikacije
<b>JAGN1 mutacija</b>	JAGN1	AR	Ponekad zaustavljanje sazrijevanja, abnormalnosti kostiju i zuba, egzokrina disfunkcija gušterače
<b>Kostmannova bolest</b>	HAX1	AR	Zaustavljanje sazrijevanja, mentalna retardacija, napadaji i sklonost razvoju MDS/AML
<b>P14/LAMTOR2 mutacija</b>	LAMTOR2	AR	Kronična neutropenija, hipogamaglobulinemija, nema zaustavljanja sazrijevanja, okulokutani albinizam, neuspjeh u napredovanju
<b>Pearsonov sindrom</b>	Delecije mitohondrijske DNA	Mitohondrijsko nasljeđivanje	Refraktorna sideroblastična anemija, vakuolizacija prekursora koštane srži, egzokrina disfunkcija gušterače
<b>Schimkeova imuno-koštana displazija</b>	SMARCAL1	AR	Spondilo-epifizna displazija, sporo progresivni imunološki defekt, nefritis uzrokovan imunokompleksima
<b>SEC61A1 mutacija</b>	SEC61A1	AD	Zaustavljanje sazrijevanja i tubulointersticijska bubrežna bolest
<b>SMARCD2 mutacija</b>	SMARCD2	AR	Displastični sindrom, nema granula u neutrofilima, kronični proljev, abnormalnosti kostiju, spuštene uši
<b>Specifični nedostatak granula</b>	CEBPE	AR	Neutrofili s bilobiranim jezgrama
<b>TCIRG1 neutropenija</b>	TCIRG1	AD	Varijabilno/nema zaustavljanja sazrijevanja, angiomatoza kože
<b>VPS45 mutacija</b>	VPS45	AR	Mijeloidna hiperplazija, mijelofibroza, nefromegalija, HSM, mentalna retardacija, epilepsija i osteoskleroza
<b>Wolcott-Rallisonov sindrom</b>	EIF2AK	AR	Zaustavljanje sazrijevanja, inzulin-ovisni neonatalni dijabetes, epifizna displazija, zaostajanje u rastu, disfunkcija jetre i bubrega, kašnjenje u razvoju, egzokrina disfunkcija gušterače
<b>Povezane s imunodeficijencijom / disregulacijom imunološkog sustava</b>			
<b>Nedostatak adenozin deaminaze 2</b>	ADA2	AR	Teška kombinirana imunodeficijencija, vaskulitis, cerebrovaskularna bolest, aplazija eritrocita, BMF
<b>ALPS</b>	FAS, FASLG, CASP10	AD	Limfoproliferacija i autoimune citopenije
<b>CD40L/hiper IgM sindrom, tip I</b>	CD40L	X-vezano	Teške infekcije, autoimune bolesti, predispozicija za rak
<b>Chédiak-Higashi sindrom</b>	LYST	AR	Smanjena pigmentacija kose i očiju, peroksidaza-pozitivna inkluzijska tjelešca u mijeloblastima i promijelocitima koštane srži, razvoj limfoma
<b>CLPB sindrom</b>	CLPB	AR	Katarakte i neurološki simptomi
<b>FHLH</b>	PRF1, nedostatak perforina (FHL2)	AR	Groznica, HSM i citopenije
	UNC13D, UNC13D deficijencija (FHL3)	AR	Groznica, HSM i citopenije
<b>GATA2 sindrom</b>	GATA2	AD	Monocitopenija, gluhoća i HPV infekcije

<b>Griscelli sindrom, tip II</b>	RAB27A	AR	Hipomelanoza i neurološki oštećenje
<b>Hermansky-Pudlak sindrom tip 2</b>	AP3B1	AR	Albinizam
<b>Retikularna disgeneza</b>	AK2	AR	Teška kombinirana imunodeficijencija i senzorneuralna gluhoća
<b>STK4 mutacija</b>	STK4	AR	Intermitentna neutropenija, monocitopenija, T- i B-limfopenija, atrijski defekt i HPV infekcije
<b>WHIM sindrom</b>	CXCR4	AD	Nema zaustavljanja sazrijevanja, mijelokateksija i limfopenija, kardiopatija (tetralogija Fallot)
<b>Wiskott-Aldrichov sindrom</b>	WAS gubitak funkcije	X-vezano	(WASp-XLT) Ekcem, trombocitopenija, teške infekcije i krvavi proljev
<b>CVID</b>	Različiti geni uključujući TNFSRF13, BAFFR, CTL4, LRBA, PI3K	AD,AR	Ponavljajuće infekcije, hipogamaglobulinemija i autoimune citopenije (uključujući neutropeniju)
<b>Povezane s metaboličkim poremećajima i nutritivnim deficijencijama</b>			
<b>Gaucherova bolest tip I</b>	GBA	AR	HSM, trombocitopenija i osteolitičke lezije
<b>Glikogenoza tip Ib</b>	SLC37A4/G6PT1	AR	Hepatomegalija, IBD, hipoglikemija
<b>Izovalerična acidemija</b>	IVD	AR	Neonatalna ketoacidoza, kašnjenje u razvoju, letargija, odbijanje hrane
<b>Metilmalonska acidemija</b>	MMUT	AR	Letargija, neuspjeh u napredovanju, ponavljajuće povraćanje, hipotonija, hepatomegalija, kašnjenje u razvoju
<b>Propionska acidemija</b>	PCCB, PCCA	AR	Letargija, kardiomiopatija, poteškoće s hranjenjem, akutna encefalopatija
<b>Manjak transkobalamina II</b>	TCN2	AR	Kašnjenje u razvoju, proljev, povraćanje, letargija, ulceracije sluznice
<b>Povezano sa zatajenjem koštane srži</b>			
<b>Fanconijeva anemija</b>	FANC komplementacijska skupina	AR X-vezano (FANCB)	Kongenitalne malformacije i predispozicija za rak
<b>Ribosomopatije</b>			
<b>Diamond-Blackfan anemija</b>	RPS7, RPS10, RPS15, RPS17, RPS19, RPS24, RPS26, RPS27, RPS27a, RPS28, RPS29 RPL5, RPL9, RPL11, RPL15, RPL18, RPL26, RPL27, RPL31, RPL35a	AD	Eritroidna hipoplazija, kongenitalne malformacije, zaostajanje u rastu, osteosarkom, MDS i AML
	GATA1	X-vezano	Rana pojava anemije, trombocitopenija, eritroidna hipoplazija koštane srži
	EPO	AR	Eritroidna hipoplazija
	TSR2, HEATR3	X-vezano AR	Eritroidna hipoplazija, kraniofacijalni defekti, nizak rast, specifična obilježja lica, akromelična dismorfična obilježja, intelektualne poteškoće
<b>Hipoplazija hrskavica-kosa (eng. Cartilage-hair hypoplasia)</b>	RMRP	AR	Nizak (patuljasti) rast s drugim skeletnim abnormalnostima, metafizna hondrodisplazija, labavost ligamenata, hipotrihoza, imunodeficijencija, ponavljajuće infekcije



<b>Shwachman-Diamondov sindrom</b>	SBDS, EFL1, DNAJC21	AR	Blaga neutropenija, disgranulopoeza, blaga dismegakariopoeza, diseritropoeza, egzokrina insuficijencija gušterače, metafizna displazija, kognitivna oštećenja, kardiomiopatija, neuspjeh u napredovanju i abnormalnosti kose/kože/zuba
<b>SAMD9/SAMD9L sindromi</b>	SAMD9/SAMD9L	AD	Insuficijencija nadbubrežne žlijezde, kongenitalne malformacije, cerebelarna ataksija, teške invazivne infekcije, predispozicija za MDS
<b>SRP54 mutacija</b>	SRP54	AD	Zaustavljanje sazrijevanja, teški zastoj u neurološkom razvoju, egzokrina disfunkcija gušterače
<b>Bolesti uzrokovane poremećajem telomera</b>	DKC1	X-vezano	Mukokutana obilježja, fibroza jetre, idiopatska plućna fibroza, predispozicija za rak
	hTR, TERT, TINF2, DKC1, ACD	AD	
	TERT, NHP2, NOP10, WRAP53, NOLA3, TCB1, RTEL1, CTC1, PARN	AR	
<b>U6 small nuclear RNA biogenesis</b>	USB1 (Clericuzio sindrom, poikiloderma s neutropenijom)	AR	Retinopatija, kašnjenje u razvoju, facijalna dismorfija, poikiloderma

AD = autosomno dominantno, AR = autosomno recesivno, ALPS = autoimuni limfoproliferativni sindrom, MDS = mijelodisplastični sindrom, AML = akutna mijeloična leukemija, FHLH = obiteljska hemofagocitna limfohistiocitoza, HPV = humani papiloma virus, IBD = upalna bolest crijeva, HSM = hepatosplenomegalija, BMF = zatajenje koštane srži

Kod poremećaja neutrofilne proizvodnje i otpuštanja iz koštane srži postoji veći rizik od bakterijskih i gljivičnih infekcija nego kod periferne neutropenije povezane s koštanom srži normalne morfologije. Rizik za infekciju kod centralne neutropenije raste umjereno ako je broj neutrofila 1000-200 / $\mu$ L, a rizik za osobito teške infekcije ukoliko je manji od 200 / $\mu$ L. Rizik od gljivičnih infekcija raste nakon nekoliko tjedana trajanja neutropenije (9). Rizik i težina infekcije ne ovise isključivo o broju neutrofila u perifernoj krvi već i o sposobnosti pojedinca za regrutaciju i dostavu neutrofila do ciljnih tkiva (1). Simptomi i znakovi teške kongenitalne neutropenije javljaju se već u ranom djetinjstvu. Novorođenčad se često prezentira akutnim i teškim infekcijama pupka već tijekom prvih dana života, a tijekom prvih tjedana mogu se javiti vrućice s respiratornim simptomima uključujući i pneumonije. Tijekom prvih nekoliko tjedana ili mjeseci života mogu se javljati apscesi dubokih tkiva i celulitisi, a tijekom prve dvije godine i teški gingivitis i teški parodontitis (5). Gingivitis koji se pojavljuje kod pacijenata s teškom kongenitalnom neutropenijom su erozivni, hemoragični i jako bolni, a uz njih se javljaju i papule jezika i sluznice obraza koje su nalik aftama. Ako se neutropenični pacijent prezentira proljevom ili bolovima u abdomenu trebamo uzeti u obzir postojanje difuznih gastrointestinalnih lezija koje

mogu oponašati Chronovu bolest. Jedna od karakterističnih infekcija gastrointestinalnog trakta je također infektivna ulceracija perianalne regije (ecthyma gangrenosum). Najčešći gljivični uzročnici infekcija su *Candida* i *Aspergillus*, ali je ipak većina infekcija kod bolesnika s teškom kongenitalnom neutropenijom bakterijskog podrijetla. Najčešći bakterijski uzročnici su *Staphylococcus aureus* i *epidermidis*, streptokoki, enterokoki, pneumokoki, *Pseudomonas aeruginosa* i gram-negativni bacili (9). Postoje i neke vrlo specifične oportunističke infekcije koje se pojavljuju samo kod određenih entiteta. Primjer su HPV infekcije, tuberkuloza i infekcije uzrokovane atipičnim mikobakterijama koje možemo vidjeti kod pacijenata s WHIM sindromom, GATA2 sindromom i nedostatkom STK4 (19). Iako je neutropenija zajednička značajka svih oblika teške kongenitalne neutropenije, težina neutropenije varira čak i unutar istog pacijenta kroz vrijeme (5). Također, važno je napomenuti i da simptomi infekcija kod pacijenata s teškom neutropenijom zbog smanjene lokalne upalne reakcije ne moraju biti tipični, što rezultira nedostatkom gnoja i manjom tendencijom za stvaranje nekroze (9,20).

Kongenitalne neutropenije mogu biti uzrokovane mutacijama gena koje će se osim neutropenijom, manifestirati simptomima brojnih nehematoloških organskih sustava. Stoga je osim znakova infekcija

karakterističnih za sve oblike kongenitalnih neutropenija, važno spomenuti i ekstrahematološke simptome koji se javljaju samo kod određenih kliničkih entiteta. Srčana disfunkcija može biti uzrokovana različitim mehanizmima u kongenitalnim neutropenijama. U Shwachman-Diamond sindromu javlja se u sklopu kardiomiopatije (21), u WHIM sindromu može se pronaći tetralogija Fallot (22), kod mutacije STK4 javlja se atrijski septalni defekt (23), a aritmije kod mutacije gena G6PC3 (24). U sklopu Barthovog sindroma, srčana disfunkcija može biti uzrokovana dilatativnom kardiomiopatijom (25). Poremećaji u neurološkom razvoju javljaju se kod Kostmannovog sindroma (26), Shwachman-Diamond sindroma (27) i Cohenove bolesti (28), a različite neurološke manifestacije vide se i kod mutacija gena poput CLBP, SRP54 i VPS45 (4). Egzokrina insuficijencija gušterače je vodeći uzrok morbiditeta pacijenata sa Shwachman-Diamond sindromom (29). Lezije kože koje vidamo kod Clericuzio neutropenije (mutacija gena USB1) karakterizira atrofija kože te papularni eritematozni osip. Jedan od najčešćih simptoma zahvaćenosti kože je kompletni ili parcijalni albinizam koji kod većine sindroma uz koje se javlja, poprma okulokutanu formu (4). Primjeri ostalih zahvaćenih organa i organskih sustava su kosti (mutacija gena SBDS), urogenitalni sustav (mutacija gena G6PC3), probavni sustav (mutacije gena G6PC3 i SLC37A4) te jetra (mutacija gena SLC37A4) (5,19).

### Molekularna pozadina

Mutirani geni odgovorni za nastanak teških kongenitalnih neutropenija mogu klasificirati i s obzirom na funkciju proteinskog produkta određenog gena. Podjela gena u takve podgrupe omogućava nam promatranje i proučavanje mehanizama koji su doveli do gubitka funkcije neutrofila i posljedično do razvitka bolesti (4). Ovdje se opisuju mutirani geni grupirani po kontekstu sličnih patomehanizama djelovanja proteina za koje ti geni kodiraju. Mutirani geni uzeti kao primjer, kodiraju proteine važne za normalno funkcioniranje neutrofilnih granula (ELANE), regulaciju apoptoze i staničnog ciklusa (HAX1, STK4, TFAFAZZIN), djeluju kao regulatori neutrofilnog otpuštanja iz koštane srži (CXCR2, CXCR4) i transporteri (SLC37A4). Ovo je samo manji dio postojećih kliničkih entiteta i identificiranih molekularnih pozadina njihovog nastanka.

### Defekti granula

***ELANE mutacije: teška kongenitalna neutropenija i ciklička neutropenija***

Mutacije gena ELANE najčešći su poznati uzrok kongenitalne neutropenije. Uzrokuju cikličku i tešku kongenitalnu neutropeniju koje se nasljeđuje autosomno dominantno (9). ELANE mutacija prvi put je opisana 1999. godine analizom gena unutar 13 obitelji s dugogodišnjom poviješću cikličke neutropenije (17). U usporedbi s drugim formama kongenitalnih neutropenija, neutropenije uzrokovane mutacijama u genu ELANE, povezane su s najtežim infektivnim komplikacijama (9,30). Genotipizacija kao jedina pretraga nije dovoljna za postavljanje dijagnoze teške kongenitalne neutropenije s obzirom da dolazi do preklapanja u mutacijama koje uzrokuju tešku kongenitalnu i cikličku neutropeniju (18,31,32). Osim preklapanja u molekularnoj podlozi, često je teško razlikovati po kliničkoj slici. Oscilacije u broju neutrofila mogu privremeno biti prisutne i u teškim kongenitalnim neutropenijama. Nadalje, i pacijenti s cikličkom neutropenijom ne moraju pokazivati jasan obrazac oscilacije u broju neutrofila (18). Ponekad se ova dva entiteta zato promatraju i kao dio kontinuuma iste bolesti (9).

### ***Teška kongenitalna neutropenija***

Mutacije gena ELANE najčešći su uzrok teške kongenitalne neutropenije (TKN) i mogu se vidjeti kod 40-60% pacijenata. TKN uzrokovanu mutacijom gena ELANE karakterizira zastoj u sazrijevanju neutrofila u stadiju promijelocita, vrijednost apsolutnog broja neutrofila u perifernoj krvi manja od  $0.5 \times 10^9/L$  i rani početak teških bakterijskih infekcija (5,33). Često se mogu vidjeti i monocitoza, hipereozinofilija i hipergamaglobulinemija u krvi. Dijagnoza teške kongenitalne neutropenije uzrokovane mutacijom ELANE se uglavnom postavlja prije dobi od 6 mjeseci. Ovi pacijenti zahtijevaju visoke doze G-CSF-a te imaju visok rizik za leukemičnu transformaciju (9). Klinički se često manifestiraju infekcijama dubokih tkiva i pneumonijama s teškim oporavkom (34).

### ***Ciklička neutropenija***

Ciklička neutropenija (CyN) definira se oscilacijom u apsolutnom broju neutrofila (ABN) s tipičnim padom u broju neutrofila svakih 21 do 28 dana. Periodičnost u padu broja neutrofila može se odražavati i na oscilacije u broju trombocita, a ponekad i broju retikulocita te limfocita (35). U prvoj fazi kruga su vrijednosti ABN-a u krvi izrazito niske, a često mogu dosegnuti i nulu. Nakon 3-5 dana u drugom dijelu kruga, broj neutrofila se brzo oporavlja obično do vrijednosti od  $2.0 \times 10^9/L$  (34). Nakon nekoliko

dana od tog vrhunca, razina neutrofila opet počinje padati. Sumnja na cikličku neutropeniju treba biti potvrđena mjerenjem vrijednosti apsolutnog broja neutrofila dva do tri puta tjedno tijekom perioda od 4-6 tjedana. Mutacije gena ELANE povezane su s cikličkom neutropenijom u približno 60 % slučajeva (3). Ciklička neutropenija se smatra manje teškom bolešću od teške kongenitalne neutropenije, iako i ona nosi nezanemariv rizik od teških infekcija kad su razine neutrofila na najnižoj razini. Dijagnoza se uglavnom postavlja tijekom ili nakon druge godine života, a glavna klinička manifestacija je postojanje rekurentnih afti (9). Pacijenti koji boluju od cikličke neutropenije imaju povećanu sklonost za razvoj infekcija uzrokovanih bakterijama iz roda *Clostridium* (34). Ciklička neutropenija ima niži rizik za malignu transformaciju u MDS ili AML i manji morbiditet (31). Razumijevanje patofiziološkog mehanizma regularnosti u oscilaciji broja neutrofila još uvijek predstavlja izazov. To je navelo i neke matematičare da predlože svoj model za njegovo objašnjenje. Prvi model napravljen u tu svrhu temelji se na pretpostavci da se proizvodnja neutrofila odvija pod kontrolom stimulacijskih faktora dalekog dometa (G-CSF) mehanizmom dugačke negativne povratne sprege. Druga važna pretpostavka za razumijevanje dinamike u proizvodnji neutrofila je postojanje signifikantnog kašnjenja od trenutka dolaska kontrolnog signala do ciljnih stanica (nezrelih neutrofilnih prekursora) do postizanja njegovog potpunog učinka (povišenje broja zrelih cirkulirajućih neutrofila). To je vrijeme potrebno za diferencijaciju iz progenitorske stanice u zreli neutrofil (35,36). Autor ovog modela, postavio je hipotezu da bi ometanja u ranom stadiju proizvodnje neutrofila mogla biti uzrokom oscilacija u ABN-u. U skladu s tom hipotezom, oscilacija u broju neutrofila događa se ako uz osnovnu mutaciju gena, postoje i drugi genetski ili stečeni poremećaji koji utječu na rani stadij proliferacije mijeloidnih stanica (34). Primjena G-CSF-a kod pacijenata s cikličkom neutropenijom najčešće ne prekida oscilaciju, ali povećava ABN, skraćuje trajanje perioda oscilacije na 14 dana i prevenira nastanak teških infekcija (37).

Gen ELANE kodira za neutrofilnu elastazu (NE). Radi se o citotoksičnoj serinskoj proteazi sintetiziranoj pretežito u promijelocitnom stadiju. Otpušta se pri neutrofilnoj aktivaciji na mjestu upale iz azurofilnih granula u kojima je primarno pohranjena u svojoj aktivnoj formi (5). Neutrofilna elastaza sintetizira se u inaktivnoj proenzimskoj formi čija aktivacija ovisi o fuziji neutrofilnih granula s fagolizosomom (4). Nakon što je potpuno funkcionalan

enzim otpušten, ostvaruje svoju optimalnu ne-oksidacijsku antimikrobnu funkciju i regulira imunološki sustav u neutralnoj okolini. Neutrofilna elastaza hidrolizira različite proteinske substrate uključujući receptore na površini stanica, koagulacijske proteine, faktore rasta, unutarstanične signalne molekule i proteine ekstracelularnog matriksa (4,5,38). Otkriveno je više od 200 različitih ELANE mutacija nasumično raspoređenih duž cijelih egzona i introna 3 i 4 (5,32). Iako je poznat doprinos i važnost mutacije gena ELANE kao najčešćeg uzroka teške kongenitalne neutropenije, patofiziološki mehanizmi samog nastanka dugo su bili predmetom rasprave (4). Smatra se da su strukturni poremećaji proteina neutrofilne elastaze zaslužniji od funkcionalnih u ometanju granulopoeze (39). Jedan od potencijalnih mehanizama odgovornih za gubitak funkcije neutrofila povezan je s odgovorom na nesmotane protein (*engl. UPR-unfolded protein response*) odnosno s apoptozom uzrokovanom prolongiranom UPR aktivacijom. Radi se o intracelularnom signalnom putu koji se aktivira kao odgovor endoplazmatskog retikuluma na ER stres uzrokovan nakupljanjem pogrešno složenih proteina neutrofilne elastaze u njegovom lumenu. Slaganje proteina je dinamičan i nesavršen proces koji se odvija u specijaliziranim uvjetima unutar endoplazmatskog retikuluma, a ovisan je o mnoštvu faktora. Svaka mutacija inicijalno aktivira UPR koji reprogramira transkripciju kako bi povećao kapacitet ER za degradaciju pogrešno složenih proteina. Iako ovi adaptivni odgovori služe kako bi zaštitili stanicu od stresa unutar endoplazmatskog retikuluma, pri uvjetima izraženog stresa oni su nadvladani (preplavljeni) pa dolazi do narušavanja homeostaze. Nesrazmjer između pogrešno složenih proteina i kapaciteta endoplazmatskog retikuluma dovodi do stanja koje nazivamo ER stres i posljedično do ER stresom inducirane apoptoze (4,39-41). Iako prevladava hipoteza da stanični stres uzrokovan pogrešno složenim proteinima neutrofilne elastaze izaziva neutropeniju, postoji širok spektar ELANE mutacija koje ne izazivaju pogrešno slaganje proteina neutrofilne elastaze. Stoga se može pretpostaviti da postoje i alternativni mehanizmi kojim mutacije gena ELANE mogu dovesti do neutropenije. Navedena heterogenost u mutacijama mogla bi biti i potencijalno objašnjenje varijabilnosti u odgovoru na liječenje G-CSF-om kod različitih pacijenata kao i različitog rizika za razvoj leukemije (42). Studija A. Olofsen i sur. iz 2021. godine (42) pokazala je da postoje povišene razine promijelocitnog leukemičnog proteina u nuklearnim tjelešcima

(PML) u hematopoetskoj matičnoj stanici pacijenata kod kojih ELANE mutacija izaziva pogrešno slaganje proteina neutrofilne elastaze. PML je marker za akutni oksidativni stres budući da se otpušta kao odgovor na povišene razine reaktivnih kisikovih radikala (ROS), a sudjeluje u procesu degradacije pogrešno složenih proteina. Osim toga, djeluje i na ekspresiju gena ELANE kao i na metabolički status hematopoetskih matičnih stanica koje su mutant za gen ELANE. Iz toga se može zaključiti da ima ulogu u mehanizmu povratne sprege pri razvoju bolesti. Delecijom PML-a kao i ispravljanjem mutacije ELANE vraća se odgovor na G-CSF hematopoetskih matičnih stanica mutanata za ELANE gen. Ovaj podatak mogao bi biti važan za primjenu G-CSF-a u terapiji (42). Potpune delecije gena ELANE nisu opisane kao jedan od patofizioloških mehanizama nastanka teških kongenitalnih neutropenija te se gubitak ELANE gena u kontekstu teške kongenitalne neutropenije smatra manje štetnim od defekta gena koji vodi do promjene strukture samog gena. Neke besmislene mutacije i one koje dovode do pomaka okvira čitanja dovode do preranog završetka proteinskog lanca. Takve varijante ELANE mutacija pronađene su samo kod pacijenata koji boluju od cikličke neutropenije (4). Pojedine ELANE mutacije kao što su p.C151Y ili p.G214R identificirane su kao uzrok težih fenotipova ove bolesti s obzirom na povećan rizik leukomogeneze, teških infekcija i slabijeg odgovora na terapiju G-CSF-om (5).

## Regulacija apoptoze i staničnog ciklusa

### *HAX1* mutacije: *Kostmannov sindrom*

Kostmannov sindrom nastaje kao posljedica mutacije gena HAX1 koja se nasljeđuje autosomno recesivno, osobito među populacijama za koje je karakterističan kosangvinitet (43). Tu je bolest opisao Rolf Kostmann 1956. godine nazivajući je “novorođenačkom agranulocitozom”. Karakterizirale su je 3 značajke: teška neutropenija s brojem neutrofila manjim od  $0.2 \times 10^9/L$  koja se pojavljivala tijekom prvih nekoliko tjedana života, maturacijski arrest u promijelocitnom stadiju i smrt uzrokovana teškim bakterijskim infekcijama (11 od 14 promatranih pacijenata umrlo je od infekcija tijekom prve godine života). U svojoj studiji Kostmann je opisao 14-ero djece koji su potjecali iz 9 različitih obitelji, a živjeli su na geografski izoliranom dijelu Švedske (44). I danas je u primjeni naziv Kostmannov sindrom za navedeni entitet, a ponekad se pogrešno koristi i za teške kongenitalne neutropenije uzrokovane mutacijom gena ELANE (9,44). Učestalost ovog entiteta

nije točno poznata, ali se smatra puno rjeđim od neutropenije uzrokovane ELANE mutacijom. Glavna klinička značajka je teška neutropenija s monocitozom, reaktivnom eozinofilijom i velikom sklonošću za bakterijske infekcije koje se pojavljuju već u prvim tjednima života (9). Mutacija HAX1 gena uzrokuje zastoj u sazrijevanju neutrofila u stadiju promijelocita slično pacijentima s ELANE mutacijom. Također, postoji približno isti rizik za MDS/AML transformaciju kao i kod pacijenata s teškom kongenitalnom neutropenijom uzrokovanom mutacijom gena ELANE (34). Otkrivene su dvije HAX1 izoforme. Mutacije koje zahvaćaju obje izoforme, osim teškom kongenitalnom neutropenijom očituju se i neurološkim simptomima koji uključuju epilepsiju i kašnjenje u neurološkom razvoju (45). Također, zamijećene su učestale abnormalnosti u razvoju reproduktivnog sustava kod žena s kongenitalnom neutropenijom uzrokovanom HAX1 mutacijom (46).

HAX1 gen kodira za ubikvitarno eksprimiran protein HAX-1 lokaliziran unutar mitohondrijske membrane, endoplazmatskog retikuluma i citoplazme. Osim raznolikih lokalizacija na kojima se nalazi, HAX-1 protein sudjeluje i u raznim staničnim procesima uključujući signalnu transdukciju, citoskeletnu kontrolu i djeluje kao antiapoptotski signal (43). Mitohondriji su prepoznati kao ključni regulatori apoptoze u neutrofilima (47). HAX-1 protein igra ključnu ulogu u očuvanju potencijala unutarnje mitohondrijske membrane i zaštiti mijeloidne stanice od apoptoze. Neutrofilni pacijenata s HAX-1 mutacijama pokazuju veću učestalost spontanog apoptoza kao i apoptoza induciranih citokinom TNF- $\alpha$  (43). Nedavno je otkriven CLBP, protein koji djeluje kao kritični partner HAX-1 proteina u stanicama. CLBP/HAX1 os regulira ravnotežu u sintezi mitohondrijskih proteina nužnih za normalno funkcioniranje mitohondrija. Otkriveno je i da se dio pacijenata s CLBP mutacijom manifestira moždanom disfunkcijom i kongenitalnom neutropenijom (48). Aktivacija G-CSFR vezanjem liganda inducira proliferaciju, preživljenje i diferencijaciju mijeloidnih stanica. Defekti nizvodno u signalnom putu nakon aktivacije receptora prekidaju mijeloidnu diferencijaciju i mogu voditi ili u leukemičnu transformaciju ili u nastanak neutropenije (49). HAX-1 protein je konstitutivno povezan s HCLS1 proteinom i nužan je za njegovu interakciju s LEF-1 transkripcijskim faktorom. Stimulacija G-CSF-om dovodi do fosforilacije HCLS1 proteina što mu omogućava vezanje s LEF-1 transkripcijskim faktorom. Kod pacijenata

s naslijeđenim HAX1 mutacijama dolazi do teških poremećaja u G-CSF-om stimuliranoj fosforilaciji HCLS1 i posljedično do smanjene autoregulacije i ekspresije faktora LEF-1 te zastoja u mijeloidnoj diferencijaciji (50).

### **STK4 mutacija**

STK4 je još jedan gen uključen u regulaciju apoptoze, a mutiran ima ulogu u nastanku nekih oblika kongenitalne neutropenije koji se nasljeđuju autosomno recesivno. STK4 može imati proapoptotski kao i antiapoptotski učinak ovisno o uvjetima u kojima se nalazi. U normalnim je uvjetima smješten u citoplazmi gdje u odgovoru na apoptotski signal sudjeluje u procesu apoptoze. Osim toga u interakciji s RASSF1A djeluje kao promotor u Ras posredovanom apoptotskom signalnom putu. Ova njegova uloga objašnjava srčane defekte uočene kod pacijenata sa STK4 mutacijama. Naime, u srčanom mišiću nakon aktivacije s RASSF1A, osim što promovira apoptozu srčanih stanica, STK4 također inhibira proliferaciju fibroblasta kontrolirajući na taj način srčanu remodelaciju (4).

### **TAFAZZIN mutacija: Barthov sindrom**

Barthov sindrom je rijetka bolest karakterizirana umjerenom do teškom neutropenijom, dilatativnom kardiomiopatijom, miopatijom i poremećajem rasta koja se nasljeđuje X-vezano recesivno (51). Uzrokovana je mutacijom koja uzrokuje gubitak funkcije gena TAFAZZIN (52). Težina neutropenije značajno varira, a kod mnogih se pacijenata pronalazi i monocitoza u krvi. Razina neutrofila u krvi može, ali vrlo rijetko, pokazivati i cikličke oscilacije (34). Dijagnoza se obično postavlja na temelju pojave simptoma srčanog zatajenja, iako se neki pacijenti prezentiraju i simptomima akutne bakterijske infekcije praćene neutropenijom (25). Osobit problem predstavljaju pneumonije i ostale respiratorne infekcije. Srčanom transplantacijom ispravljaju se miokardijalne abnormalnosti, a liječenje G-CSF-om pokazalo se kao vrlo učinkovito u zbrinjavanju neutropenije (34).

Proteinski produkt gena TAFAZZIN je protein mitohondrijske membrane čija je uloga očuvanje strukturalnog integriteta mitohondrija. Uključen je i u remodelaciju glavnog lipida unutarne mitohondrijske membrane kardiolipina. Pacijenti s Barthovim sindromom pokazuju defekte u metabolizmu kardiolipina uz značajno smanjene razine istoga u krvi. U studiji Makaryan i sur. (2012.) pokazali su da u mijeloidnim stanicama sa smanjenom ekspresijom TAFAZZIN gena, dolazi do poremećaja

u potencijalima mitohondrijske membrane. To posljedično dovodi do programirane stanične smrti. U mutiranim mijeloidnim progenitorskim stanicama sa smanjenom ekspresijom TAFAZZIN gena dolazi do abnormalnog otpuštanja citokroma c iz mitohondrija oštećene strukture. Taj događaj praćen aktivacijom kaspaze 3, igra glavnu ulogu u ubrzanoj apoptozi humane progenitorske mijeloidne stanice i nastanku neutropenije. Činjenica da je ubrzana apoptoza mijeloidnih progenitorskih stanica s nokautiranim TAFAZZIN genom (korištenih u ovoj studiji) praćena aktivacijom kaspaze-3, sugerira da bi specifični inhibitori kaspaze mogli biti korisni u blokiraju ubrzane apoptoze stanica. Uloga specifičnih inhibitora kaspaza (zVAD-fmk) u liječenju patoloških stanja vezanih uz povećanu aktivnost kaspaza, trenutno se dokazuje u nekim kliničkim istraživanjima. Postoji mogućnost da to uskoro postane i novi lijek za liječenje neutropenija u sklopu Barthovog sindroma (53).

### **Regulatori neutrofilnog otpuštanja iz koštane srži**

#### **CXCR4 i CXCR2 mutacije: WHIM sindrom**

WHIM sindrom je autosomno dominantna kombinirana imunodeficijencija uzrokovana heterozigotnom mutacijom u genu koji kodira za CXCR4. Navedene mutacije dovode do defekta u strukturi receptora koji pokazuje oštećenu internalizaciju i pojačanu signalizaciju koja rezultira abnormalnom retencijom neutrofila u koštanoj srži (mijelokatheksija) i posljedično kroničnom neutropenijom. Stoga pacijenti s WHIM sindromom imaju snižen broj neutrofila u perifernoj krvi unatoč normalnom broju zrelih neutrofila u koštanoj srži (54). Radi se o nekoliko poremećaja čiji su engleski nazivi obuhvaćeni akronimom WHIM: bradavice (warts), hipogamaglobulinemija, infekcije i mijelokatheksija (55,56).

WHIM sindrom 2 je naziv koji se ponekad koristi za bolest uzrokovanu homozigotnim mutacijama gena koji kodira CXCR2. Iako točan mehanizam nastanka kongenitalne neutropenije u ovom entitetu nije u potpunosti razjašnjen, znamo da je on različit od onog kod WHIM sindroma. Po dosad prikupljenim podacima, čini se da specifične mutacije u N-terminalnoj domeni utječu na kemotaksijski odgovor neutrofila predvođen CXCL8 kemokinom. Smatra se da bi potencijalno primarni problem moglo biti oštećenje neutrofilne homeostaze, budući da se mijelokatheksija ili poremećen kemotaksijski odgovor ne moraju javiti kod svih oboljelih (4,57).

Koštana srž osim kao mjesto proizvodnje krvnih

stanica služi i kao skladište gdje se pohranjuju zrele neutrofilne rezerve tijekom 4-6 dana. To omogućuje neutrofilima da se u odgovoru na ozljedu ili infekciju brzo mobiliziraju i da im se razine u krvi znatno povise u manje od sat vremena. U tom procesu sudjeluju brojni regulatori od kojih su najvažniji receptori CXCR4 i CXCR2 koji imaju suprotan i antagonistički učinak (54). Aktivacija CXCR2 potaknuta kemokinima iz porodice CXCL8 promovira otpuštanje neutrofila iz koštane srži (4). Pod uvjetima homeostaze, neutrofil ostaje u koštanoj srži zahvaljujući konstitutivnoj proizvodnji CXCL12 od stromalnih stanica i neutrofilnoj ekspresiji CXCR4. Smatra se da dolazi do efekta smanjenja broja CXCR4 na površini neutrofila u koštanoj srži (down-regulation) kao posljedica njegove konstantne aktivacije pri izloženosti visokim razinama CXCL12 proizvedenim lokalno. To služi kao retencijski signal. Suprotno tome, pri sniženju razine CXCL12 dolazi ubrzo do obrnutog procesa i povećanja broja CXCR4 na površini neutrofila (up-regulation) (54). Važno je poznavanje ovog mehanizma radi lakšeg razumijevanja podloge nastanka neutropenije u sklopu WHIM sindroma.

Budući da je prijenos molekula nužan za normalno funkcioniranje svih stanica, mutacije u genima koji kodiraju za transportere, još su jedan od mehanizama nastanka kongenitalnih neutropenija. U ovoj skupinu mutacija koje uzrokuju teške kongenitalne neutropenije, posebno su značajne mutacija gena *SLC37A4* koji kodira za transporter glukoza-6-fosfata, gena *TCN2* za transporter vitamina B12 i gena *TCIRG1* čiji produkt djeluje kao dio protonskog kanala V-ATPaze (4).

### **Mutacije gena *SLC37A4*-Glikogenoza tip 1b**

Kongenitalna neutropenija vezana uz mutaciju gena *SLC37A4* javlja se u sklopu autosomno recesivne bolesti pohrane glikogena- glikogenoze tip 1b (58-60). Simptomi imunoloških poremećaja koji uključuju neutropeniju i mijeloidnu disfunkciju kao i upalne bolesti crijeva specifični su za glikogenozu tip 1b, dok su ostali simptomi koje možemo pronaći i u tipu 1a: hipoglikemija, pretjerano nakupljanje glikogena u jetri, poremećaji rasta, hiperlipidemija i laktacidemija. Liječenje G-CSF-om ispravlja neutropeniju, a obično i popravljaju simptome upalne bolesti crijeva (61). Ipak, često pacijenti s glikogenozom tip 1b imaju splenomegaliju, koja može dodatno rasti pod utjecajem G-CSF-a. Stoga je važno primjenjivati najniže doze G-CSF-a koje će održavati vrijednost neutrofila na oko  $1.0 \times 10^9/L$ . Transplantacija

jetre ispravlja ovaj poremećaj, ali ne može ispraviti kroničnu neutropeniju koja se javlja ubrzo nakon rođenja (34).

Gen *SLC37A4* kodira za transportere glukoza-6-fosfata (G6PT) (62,63). Glukoza-6-fosfat transporter je lokaliziran na membrani endoplazmatskog retikuluma, a zadaća mu je da olakšava translokaciju glukoza-6-fosfata u lumen endoplazmatskog retikuluma gdje hidrolizom nastaju glukoza i fosfat (64-66). Hidrolizu obavlja katalitička podjedinica enzima glukoza-6-fosfataze. Postoje 2 enzimski aktivne glukoza-6-fosfataze: G6Paza  $\alpha$  primarno eksprimirana u organima u kojima se odvija glukoneogeneza te ubikvitarno izražena G6Paza  $\beta$  (67). Mutacija G6Paze  $\beta$  rezultira teškom kongenitalnom neutropenijom (65). Za neutrofile kao stanice u kojima se ne odvija glukoneogeneza, kompleks G6PT/G6Paza $\beta$  igra važnu ulogu pri povećanju potreba za glukozom. To objašnjava zašto se pacijenti koji boluju od glikogenoze tip 1b kao i od nedostatka G6Paze  $\beta$  manifestiraju neutropenijom kad su izloženi povećanom stresu u endoplazmatskom retikulumu, oksidativnom stresu i apoptozi. Osim toga, uobičajeno za ove bolesti je i postojanje neutrofilne disfunkcije karakterizirane poremećajima respiratornog praska i kemotaksije (65). Neke studije su pregledom koštane srži ovih pacijenata zabilježile zastoj u sazrijevanju neutrofila (68,69).

Sindrome zatajenja koštane srži koji su definirani postojanjem deficijencije jedne ili više hematopoetskih loza, karakterizira povećan rizik za razvoj akutne mijeloidne leukemije (AML) ili mijelodisplastičnog sindroma (MDS) (70). S obzirom na nezanimariv udio pacijenata koji razviju leukemiju, teške kongenitalne neutropenije trebale bi se smatrati preleukemijskim stanjem (5). Nakon uvođenja G-CSF-a kao standarda terapije teških kongenitalnih neutropenija, glavni uzrok mortaliteta postao je razvoj AML/MDS (70). Stopa pojavnosti hematoloških maligniteta kod pacijenata s kongenitalnom neutropenijom neovisno o genetičkom podtipu procjenjuje se na 10-60%. To je znatno više u odnosu na opću populaciju u kojoj se pojavljuje kod 1 na 10 000 osoba (19). Francuski registar neutropenija (*The French Neutropenia Registry*) objavio je kumulativnu incidenciju od 10.8% za MDS/AML kod pacijenata s teškom kongenitalnom neutropenijom u dobi od 20 godina (71). Druga prospektivna studija koja je uključivala 374 pacijenta iz Internacionalnog registra za teške kongenitalne neutropenije (*Severe Chronic Neutropenia International Registry*) na dugotrajnoj terapiji G-CSF-om pokazala je kumula-

tivni rizik za razvoj MDS/AML od 22% nakon 15 godina primjene G-CSF-a (10). Stopa leukemične transformacije uvelike ovisi o genetskom uzroku kongenitalne neutropenije. Procjenjuje se na 60% u pacijenata s kongenitalnom neutropenijom uzrokovanom GATA2 mutacijama, 30% kod pacijenata sa Swachman-Diamond sindromom i 15% kod pacijenata s ELANE mutacijama. Maligna transformacija je zabilježena i kod pacijenata s kongenitalnim neutropenijama uzrokovanim mutacijama u genima WAS, HAX1, G6PC3 i SLC37A4, a do sad nije zabilježena kod pacijenata s mutacijama u genima VPS13B i CXCR4 (19). Unatoč mutaciji u genu ELANE, pacijenti s cikličkom neutropenijom ne pokazuju povećan rizik za malignu transformaciju (72), ali postoje zabilježeni pojedinačni slučajevi pojave leukemične progresije i kod pacijenata s cikličkom neutropenijom (73). Pacijenti sa Swachmann Diamond sindromom, imaju povećan rizik za klonalnu hematopoezu od rane dobi zbog stjecanja mutacija u genima TP53 i EIF6. Razvoj leukemije povezan je uz stečene bialelične mutacije TP53 lokusa zbog delecije, gubitka heterozigotnosti ili točkaste mutacije (74). Pacijenti s kongenitalnom neutropenijom uzrokovanom mutacijama zametne linije u GATA2 genu pokazuju učestalu pojavnost maligne transformacije (75). Kod ovih pacijenata, studije su pokazale i prisutstvo nekih drugih somatskih mutacija kao što su STAG2, ASXL1 i DNMT3A koje dodatno utječu na smanjenje preživljenja i povećavaju rizik od progresije bolesti (76). Uvođenje metoda sekvencioniranja sljedeće generacije, značajno je unaprijedilo naše spoznaje i saznanja o genomskim defektima povezanim s leukemičnom progresijom kod pacijenata s teškom kongenitalnom neutropenijom (77). MDS/AML koji se razvijaju u sklopu kongenitalnih neutropenija, imaju različita molekularna obilježja u odnosu na *de novo* nastali MDS/AML (70,78). Sekundarni MDS/AML kod pacijenata s teškom kongenitalnom neutropenijom često je povezan sa stečenim klonalnim citogenetičkim promjenama koje uključuju monosomiju kromosoma 7 i abnormalnosti kromosoma 21 (79). U studiji koja je provedla ciljano sekvencioniranje gena velike kohorte pacijenata s MDS/AML u sklopu TKN, zabilježena je mutacija gena CSF3R koji kodira za G-CSF receptor u 90% slučajeva. Također, 63% pacijenata je imalo mutaciju u genu RUNX1 (80). Monosomija kromosoma 7, CSF3R mutacija niti RUNX1 mutacija nisu uobičajene u *de novo* nastalim MDS/AML (78,81).

### **CSF3R mutacija**

Kod većine pacijenata s teškom kongenitalnom neutropenijom i pojavom leukemične progresije, uočava se pojava hematopoetskih klonova sa somatskom mutacijom u genu CSF3R. Period od pojave prvih detektibilnih klonova s CSF3R mutacijom do pojave prvih znakova maligne transformacije je poprilično varijabilan. Kod nekih pacijenata klonovi perzistiraju mjesecima ili godinama prije pojave maligne transformacije. Stoga se može pretpostaviti da su za malignu transformaciju potrebni dodatni popratni događaji (81,82). Mutacije CSF3R gena su stečene u stadiju multipotentne progenitorske stanice. Većina mutacija CSF3R su besmislene mutacije koje uzrokuju skraćenje citoplazmatske domene G-CSF receptora u kojoj se nalazi regija bitna za indukciju sazrijevanja i inhibiciju rasta. Takvi mutirani receptori pokazuju pojačan proliferativni odgovor na stimulaciju G-CSF-om zbog poremećene internalizacije receptora. Posljedično dolazi do hiperproliferaciju uz nedostatak diferencijacije mijeloidnih stanica (4,83,84). Do klonalne hematopoeze dolazi zbog klonalnog širenja onih stanica koje su stekle određene mutacije koje im daju prednost u odnosu na ostale stanice (70,85). CSF3R mutanti pokazuju produženo poluvrijeme života na citoplazmatskoj membrani te djeluju dominantno u odnosu na divlje tipove (86), a pojačani proliferativni odgovor djeluje na klonalnu ekspanziju hematopoetskih matičnih stanica s ovom mutacijom (87). Nakon otkrivanja mijeloidnih hematopoeskih klonova sa stečenom CSF3R somatskom mutacijom, postavilo se ključno pitanje o učinku terapije G-CSF-om u proliferaciji ovih klonova (5). Podatci iz dugogodišnjih studija u kojima su se pratili pacijenti s detektiranim CSF3R mutacijama na terapiji G-CSF-om, pokazuju da udio CSF3R mutiranih klonova nije rastao (80,81). Iako očito nije dovoljna za indukciju MDS/AML, postoje snažni dokazi da mutacija CSF3R pridonosi razvoju leukemogeneze. Transformacija u MDS/AML zahtijeva stjecanje dodatnih somatskih mutacija koje kod pacijenata s teškom kongenitalnom neutropenijom uglavnom uključuju mutaciju RUNX1 i alteracije u kromosomu 7 (80).

### **RUNX1 mutacija**

Somatske mutacije RUNX1 gena pronađene su u približno 10% pacijenata s *de novo* nastalom AML, ali su ipak mnogo češće u sekundarnim formama MDS/AML (77). Mutacije gena RUNX1 do sad su najčešće pronađene somatske sekundarne mutacije kod bolesnika s MDS/AML u sklopu TKN i ponaj-

prije se pojavljuju u CSF3R mutiranim klonovima. Ovaj obrazac je uočen kod pacijenata s teškom kongenitalnom neutropenijom uzročno povezanom s mutacijama u genima ELANE, HAX1, SLC37A4, GF1 i WAS. Analize u stadijima prije razvoja leukemije, pokazale su da se RUNX1 mutacije pojavljuju kao kasni događaji u leukemičnoj transformaciji teških kongenitalnih neutropenija. Sekvencijska pojava CSF3R i RUNX1 mutiranih klonova, opisana je kao primjer jedinstvenog "kooperativnog modela" leukemogeneze u pacijenata s teškom kongenitalnom neutropenijom (80). Ove forme sekundarnih MDS/AML karakterizirira nepovoljna prognoza zbog refraktornosti na terapiju. Iako je neupitna uloga somatskih RUNX1 mutacija u sekundarnim formama MDS/AML, način na koji one pridonose patogenezi ovih stanja još je uvijek poprilično nejasan (77). Studija provedena na miševima i modelima induciranih matičnih stanica (iPCS) u svrhu boljeg objašnjenja uloge kombinacije RUNX1 mutacije i CSF3 mutacije u leukemičnoj progresiji. U njoj je pokazano da RUNX1 mutacije imaju ulogu u aktivaciji proliferativnih signalnih puteva s malim utjecajem na diferencijaciju. To dovodi do nakupljanja nezrelih stanica, ali ne i do apsolutnog diferencijacijskog bloka. Također, utvrđeno je i da kombinacija ove dvije mutacije nije dovoljna za leukemičnu progresiju, čak ni pri dugotrajnoj izloženosti G-CSF-u. Iznosena je i pretpostavka da bi sam upalni odgovor mogao biti važna dodatna sastavnica u razvoju mijeloidnog maligniteta u stanicama s RUNX1 mutacijom budući da je u svim modelima uočena pojačana aktivnost nekih upalnih citokina (77). Nedavno je opisana stečena mutacija CXX4 gena, koja smanjenjem ekspresije TET2 proteina potiče multiple upalne odgovore prepoznate kao potencijalan okidač za malignu transformaciju pacijenata s postojećim CSF3R/RUNX1 mutacijama (88). Ipak, složena interakcija i točna uzročno-posljedična veza između ovih mehanizama, ostaje predmetom daljnjih istraživanja (77).

### **Praćenje i prognoza**

Kod djece s teškom kongenitalnom neutropenijom preporuča se temeljiti nadzor perifernih vrijednosti neutrofila barem triput godišnje kao i pregled koštane srži jednom godišnje (3). Potrebno je učiniti morfološki pregled koštane srži, citogenetske analize i somatsko sekvencioniranje cijelog panela gena vezanih uz razvoj leukemije, ili minimalno sekvencioniranje gena CSF3R, RUNX1 i TP53. To je važno kako bi se što prije prepoznale citogenetičke abnormalnosti, visokorizične somatske mutacije

ili MDS prije razvoja leukemije (1). Činjenica da je dugotrajnost perzistiranja CSF3R mutiranih klonova prije razvoja maligne bolesti gotovo u potpunosti nepredvidiva, predstavlja problem pri odlučivanju o pravom trenutku djelovanja. Postavlja se pitanje kad je potrebno razmotriti prekidanje terapije G-CSF-om i eventualnu transplantaciju hematopoetskih matičnih stanica u svrhu pravovremene prevencije leukemične progresije (82). Otkriveno je i da mutacije u genima kao što su RUNX1, SETBP1, ASXL1, TP53, PTPN11 zajedno s CSF3R mutacijama mogu biti snažni indikatori preleukemičnog stanja tijekom neutropenične faze kongenitalnih neutropenija. Stoga pacijenti s nekom od ovih dodatnih mutacija zahtijevaju detaljnije i učestalije praćenje (89). Godišnje sekvencioniranje navedenih gena omogućava kontinuiran nadzor "ponašanja" klonova hematopoetskih matičnih stanica nositelja stečenih mutacija (1). Važno je nadzirati nastanak nuspojava kod pacijenata na dugoročnoj terapiji G-CSF-om. Neke od nuspojava liječenja G-CSF-om su splenomegalija i osteoporoza (3).

Prije uvođenja antibiotika, mortalitet od teških kongenitalnih neutropenija dosežao je 90%. Nažalost, i nakon otkrića i uvođenja antibiotika u kliničku primjenu, više od 80% pacijenata i dalje je umiralo od posljedica teških bakterijskih infekcija (90,91). Revolucija u liječenju teških kongenitalnih neutropenija nastala je otkrićem i početkom primjene rekombinantnog G-CSF-a (92). Njegovom primjenom, drastično se promijenila kvaliteta života djece s teškim kongenitalnim neutropenijama, ali i njihovih obitelji. Značajno je smanjen rizik od nastanka teških infekcija, a posljedično i strah od umiranja zbog njihovih komplikacija. Većina djece s teškom kongenitalnom neutropenijom i stabilnim vrijednostima ABN-a, neovisno o genetičkom uzroku neutropenije, danas doživi odraslo doba. Osim produljenja očekivanog trajanja života, većini djece je dostupnost terapije G-CSF-om omogućila sudjelovanje u normalnim životnim aktivnostima (5). Ukupno preživljenje od teških kongenitalnih neutropenija, danas se procjenjuje na preko 80% uključujući pacijente koji su razvili malignitete. Približno 10% pacijenata (uglavnom oni koji ne odgovaraju na terapiju G-CSF-om) još uvijek umire od sepse i ostalih posljedica teških kongenitalnih neutropenija. Preživljenje pacijenata s izoliranom neutropenijom bez ekstrahepatoloških manifestacija, uglavnom ovisi o njihovom odgovoru na terapiju G-CSF-om. Preživljenje pacijenata čija se neutropenija pojavljuje uz zahvaćenost drugih sustava, ovisi o težini neutro-



penije, ali i defektu drugih organa (5). Na primjer, kod Barthovog sindroma, petogodišnje preživljenje iznosi približno 51 % i u znatnoj mjeri ovisi o težini srčanog zatajenja i mogućnosti transplantacije srca (25). Unatoč činjenici da primjena G-CSF-a može održavati vrijednost neutrofila na normalnoj ili gotovo normalnoj razini, mnogi pacijenti i dalje mogu imati neke infekcije. Osobito se ističu gingivitisi i parodontitisi. Zubno-gingivalna barijera ključna je za sprečavanje penetracije bakterija ispod razine cakline. Jednom oštećen, integritet te barijere se uglavnom rijetko oporavlja pa bolesti parodonta koje nastanu, mogu perzistirati doživotno. Stoga je redovita stomatološka skrb izuzetno važna kod zbrinjavanja neutropeničnih pacijenata. Najčešći uzrok neuspjeha u liječenju je nedostatak suradljivosti pacijenta. Postojanje povećanog rizika za razvoj hematološkom maligniteta kod pacijenata s teškom kongenitalnom neutropenijom može negativno utjecati na kvalitetu pacijentova života (5). Ipak, sve pristupačnije genetsko testiranje omogućuje lakše otkrivanje somatskih mutacija prediktora maligne transformacije.

Transplantacija hematopoetskih matičnih stanica značajno doprinosi poboljšanju ishoda liječenja ovih bolesnika, stoga je pravodobna i cjelovita dijagnoza potrebna prije nego se razviju komplikacije (93). Zbog varijabilne penetracije i ekspresije gena dio bolesnika doživi i odraslu dob bez postavljene dijagnoze, što dovodi do kašnjenja započinjana liječenja i ponekad lošeg ishoda.

## Literatura:

1. Fioredda F, Skokowa J, Tamary H, Spanoudakis M, Farruggia P, Almeida A, et al. The European Guidelines on Diagnosis and Management of Neutropenia in Adults and Children: A Consensus Between the European Hematology Association and the EuNet-INNOCHRON COST Action. *HemaSphere*. 2023 Mar 30;7(4):e872.
2. Papadaki HA, Mavroudi I, Almeida A, Bux J, Cichy J, Dale DC, et al. Congenital and Acquired Chronic Neutropenias: Challenges, Perspectives and Implementation of the EuNet-INNOCHRON Action. *HemaSphere*. 2020 Jun 8;4(3):e406.
3. Fioredda F, Onofrillo D, Farruggia P, Barone A, Veltroni M, Notarangelo LD, et al. Diagnosis and management of neutropenia in children: The approach of the Study Group on Neutropenia and Marrow Failure Syndromes of the Pediatric Italian Hemato-Oncology Association (Associazione Italiana Emato-Oncologia Pediatrica - AIEOP). *Pediatr Blood Cancer*. 2022 Jun;69(6):e29599.
4. Dobrewa W, Bielska M, Bąbol-Pokora K, Janczar S, Młynarski W. Congenital neutropenia: From lab bench to clinic bedside and back. *Mutat Res Mutat Res*. 2024 Jan 1;793:108476.
5. Skokowa J, Dale DC, Touw IP, Zeidler C, Welte K. Severe congenital neutropenias. *Nat Rev Dis Primer*. 2017 Jun 8;3(1):1–18.
6. Touw IP. Congenital neutropenia: disease models guiding new treatment strategies. *Curr Opin Hematol*. 2022 Jan;29(1):27.
7. Welte K, Zeidler C, Dale DC. Severe congenital neutropenia. *Semin Hematol*. 2006 Jul;43(3):189–95.
8. Horwitz MS, Duan Z, Korkmaz B, Lee HH, Mealiffe ME, Salipante SJ. Neutrophil elastase in cyclic and severe congenital neutropenia. *Blood*. 2006 Nov 14;109(5):1817–24.
9. Donadieu J, Fenneteau O, Beaupain B, Mahlaoui N, Chantelot CB. Congenital neutropenia: diagnosis, molecular bases and patient management. *Orphanet J Rare Dis*. 2011 May 19;6(1):26.
10. Rosenberg PS, Zeidler C, Bolyard AA, Alter BP, Bonilla MA, Boxer LA, et al. Stable long-term risk of leukaemia in patients with severe congenital neutropenia maintained on G-CSF therapy. *Br J Haematol*. 2010 Jul;150(2):196–9.
11. Dale DC, Link DC. The Many Causes of Severe Congenital Neutropenia. *N Engl J Med*. 2009 Jan 1;360(1):3–5.
12. Venugopal P, Gagliardi L, Forsyth C, Feng J, Phillips K, Babic M, et al. Two monogenic disorders masquerading as one: severe congenital neutropenia with monocytosis and non-syndromic sensorineural hearing loss. *BMC Med Genet*. 2020 Feb 17;21(1):35.
13. Warren JT, Cupo RR, Wattanasirakul P, Spencer DH, Locke AE, Makaryan V, et al. Heterozygous variants of CLPB are a cause of severe congenital neutropenia. *Blood*. 2022 Feb 3;139(5):779–91.
14. Bellanné-Chantelot C, Schmaltz-Panneau B, Marty C, Fenneteau O, Callebaut I, Clauin S, et al. Mutations in the SRP54 gene cause severe congenital neutropenia as well as Shwachman-Diamond-like syndrome. *Blood*. 2018 Sep 20;132(12):1318–31.
15. Lebel A, Yacobovich J, Krasnov T, Koren A, Levin C, Kaplinsky C, et al. Genetic analysis and clinical picture of severe congenital neutropenia in Israel. *Pediatr Blood Cancer*. 2015 Jan;62(1):103–8.
16. Palmer SE, Stephens K, Dale DC. Genetics, phenotype, and natural history of autosomal dominant cyclic hematopoiesis. *Am J Med Genet*. 1996 Dec 30;66(4):413–22.

17. Horwitz M, Benson KF, Person RE, Aprikyan AG, Dale DC. Mutations in *ELA2*, encoding neutrophil elastase, define a 21-day biological clock in cyclic haematopoiesis. *Nat Genet.* 1999 Dec;23(4):433–6.
18. Dale DC, Person RE, Bolyard AA, Aprikyan AG, Bos C, Bonilla MA, et al. Mutations in the gene encoding neutrophil elastase in congenital and cyclic neutropenia. *Blood.* 2000 Oct 1;96(7):2317–22.
19. Donadieu J, Beaupain B, Fenneteau O, Bellanné-Chantelot C. Congenital neutropenia in the era of genomics: classification, diagnosis, and natural history. *Br J Haematol.* 2017;179(4):557–74.
20. Boxer LA. How to approach neutropenia. *Hematology.* 2012 Dec 8;2012(1):174–82.
21. Hauet Q, Beaupain B, Micheau M, Blayo M, Gandemer V, Gottrand F, et al. Cardiomyopathies and congenital heart diseases in Shwachman–Diamond syndrome: A national survey. *Int J Cardiol.* 2013 Aug 10;167(3):1048–50.
22. Badolato R, Dotta L, Tassone L, Amendola G, Porta F, Locatelli F, et al. Tetralogy of Fallot is an Uncommon Manifestation of Warts, Hypogammaglobulinemia, Infections, and Myelokathexis Syndrome. *J Pediatr.* 2012 Oct 1;161(4):763–5.
23. Abdollahpour H, Appaswamy G, Kotlarz D, Diestelhorst J, Beier R, Schäffer AA, et al. The phenotype of human *STK4* deficiency. *Blood.* 2012 Apr 12;119(15):3450–7.
24. Desplantes C, Fremond ML, Beaupain B, Harousseau JL, Buzyn A, Pellier I, et al. Clinical spectrum and long-term follow-up of 14 cases with *G6PC3* mutations from the French severe congenital neutropenia registry. *Orphanet J Rare Dis.* 2014 Dec 10;9(1):183.
25. Rigaud C, Lebre AS, Touraine R, Beaupain B, Ottolenghi C, Chabli A, et al. Natural history of Barth syndrome: a national cohort study of 22 patients. *Orphanet J Rare Dis.* 2013 May 8;8(1):70.
26. Roques G, Munzer M, Barthez MAC, Beaufiles S, Beaupain B, Flood T, et al. Neurological findings and genetic alterations in patients with Kostmann syndrome and *HAX1* mutations. *Pediatr Blood Cancer.* 2014;61(6):1041–8.
27. Kerr EN, Ellis L, Dupuis A, Rommens JM, Durie PR. The Behavioral Phenotype of School-Age Children with Shwachman Diamond Syndrome Indicates Neurocognitive Dysfunction with Loss of Shwachman-Bodian-Diamond Syndrome Gene Function. *J Pediatr.* 2010 Mar 1;156(3):433–438.e1.
28. Kivitie-Kallio S, Larsen A, Kajasto K, Norio R. Neurological and psychological findings in patients with Cohen syndrome: a study of 18 patients aged 11 months to 57 years. *Neuropediatrics.* 1999 Aug;30(4):181–9.
29. Donadieu J, Fenneteau O, Beaupain B, Beaufiles S, Bellanger F, Mahlaoui N, et al. Classification of and risk factors for hematologic complications in a French national cohort of 102 patients with Shwachman-Diamond syndrome. *Haematologica.* 2012 Sep;97(9):1312–9.
30. Bellanné-Chantelot C, Clauin S, Leblanc T, Cassinat B, Rodrigues-Lima F, Beaufiles S, et al. Mutations in the *ELA2* gene correlate with more severe expression of neutropenia: a study of 81 patients from the French Neutropenia Register. *Blood.* 2004 Jun 1;103(11):4119–25.
31. Makaryan V, Zeidler C, Bolyard AA, Skokowa J, Rodger E, Kelley ML, et al. The diversity of mutations and clinical outcomes for *ELANE*-associated neutropenia. *Curr Opin Hematol.* 2015 Jan;22(1):3.
32. Germeshausen M, Deerberg S, Peter Y, Reimer C, Kratz CP, Ballmaier M. The spectrum of *ELANE* mutations and their implications in severe congenital and cyclic neutropenia. *Hum Mutat.* 2013 Jun;34(6):905–14.
33. Corey SJ, Oyarbide U. New monogenic disorders identify more pathways to neutropenia: from the clinic to next-generation sequencing. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program.* 2017 Dec 8;2017(1):172–80.
34. Dale DC. How I manage children with neutropenia. *Br J Haematol.* 2017 Aug;178(3):351–63.
35. Dale DC, Mackey MC. Understanding, Treating and Avoiding Hematological Disease: Better Medicine Through Mathematics? *Bull Math Biol.* 2015 May 1;77(5):739–57.
36. Haurie C, Dale DC, Mackey MC. Occurrence of periodic oscillations in the differential blood counts of congenital, idiopathic, and cyclical neutropenic patients before and during treatment with G-CSF. *Exp Hematol.* 1999 Mar 1;27(3):401–9.
37. Hammond William P., Price Thomas H., Souza Lawrence M., Dale David C. Treatment of Cyclic Neutropenia with Granulocyte Colony-Stimulating Factor. *N Engl J Med.* 1989 May 18;320(20):1306–11.
38. Pham CTN. Neutrophil serine proteases: specific regulators of inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2006 Jul;6(7):541–50.
39. Grenda DS, Murakami M, Ghatak J, Xia J, Boxer LA, Dale D, et al. Mutations of the *ELA2* gene found in patients with severe congenital neutropenia induce the unfolded protein response and cellular apoptosis. *Blood.* 2007 Dec 15;110(13):4179–87.
40. Köllner I, Sodeik B, Schreek S, Heyn H, von Neuhoff N, Germeshausen M, et al. Mutations in neutrophil elastase causing congenital neutropenia lead to cytoplasmic protein accumulation and induction of the unfolded protein response. *Blood.* 2006 Jul 15;108(2):493–500.
41. Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007 Jul;8(7):519–29.
42. Olofsen PA, Bosch DA, Roovers O, van Strien PMH, de Looper HWJ, Hoogenboezem RM, et al. PML-controlled responses in severe congenital neutropenia with *ELANE*-misfolding mutations. *Blood Adv.* 2021 Feb 9;5(3):775–86.
43. Klein C, Grudzien M, Appaswamy G, Germeshausen M, Sandrock I, Schäffer AA, et al. *HAX1* deficiency causes autosomal recessive severe congenital neutropenia (Kostmann disease). *Nat Genet.* 2007 Jan;39(1):86–92.
44. Kostmann R. Infantile Genetic Agranulocytosis (Agranulocytosis infantilis hereditaria) A New Recessive Lethal Disease in Man. *Acta Paediatr.* 1956;45(3):309–10.
45. Germeshausen M, Grudzien M, Zeidler C, Abdollahpour H, Yetgin S, Rezaei N, et al. Novel *HAX1* mutations in patients with severe congenital neutropenia reveal isoform-dependent genotype-phenotype associations. *Blood.* 2008 May 15;111(10):4954–7.
46. Pogozhykh D, Yilmaz Karapinar D, Klimiankou M, Gerschmann N, Ebetsberger-Dachs G, Palmblad J, et al. *HAX1*-related congenital neutropenia: Long-term observation in paediatric and adult patients enrolled in the European branch of the Severe Chronic Neutropenia International Registry (SCNIR). *Br J Haematol.* 2023;202(2):393–411.
47. Newmeyer DD, Ferguson-Miller S. Mitochondria: Releasing Power for Life and Unleashing the Machineries of Death. *Cell.* 2003 Feb 21;112(4):481–90.
48. Fan Y, Murgia M, Linder MI, Mizoguchi Y, Wang C, Łyszkiewicz M, et al. *HAX1*-dependent control of mitochondrial proteostasis governs neutrophil granulocyte differentiation. *J Clin Invest [Internet].* 2022 May 2 [cited

- 2024 Apr 30];132(9). Available from: <https://www.jci.org/articles/view/153153>
49. Skokowa J, Welte K. Defective G-CSFR signaling pathways in congenital neutropenia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2013 Feb;27(1):75–88, viii.
  50. Skokowa J, Klimiankou M, Klimenkova O, Lan D, Gupta K, Hussein K, et al. Interactions among HCLS1, HAX1 and LEF-1 proteins are essential for G-CSF-triggered granulopoiesis. *Nat Med.* 2012 Oct;18(10):1550–9.
  51. Barth PG, Wanders RJA, Vreken P, Janssen E a. M, Lam J, Baas F. X-linked cardioskeletal myopathy and neutropenia (Barth syndrome) (MIM 302060). *J Inher Metab Dis.* 1999;22(4):555–67.
  52. Bione S, D'Adamo P, Maestrini E, Gedeon AK, Bolhuis PA, Toniolo D. A novel X-linked gene, G4.5. is responsible for Barth syndrome. *Nat Genet.* 1996 Apr;12(4):385–9.
  53. Makaryan V, Kulik W, Vaz FM, Allen C, Dror Y, Dale DC, et al. The cellular and molecular mechanisms for neutropenia in Barth syndrome. *Eur J Haematol.* 2012;88(3):195–209.
  54. De Filippo K, Rankin SM. CXCR4, the master regulator of neutrophil trafficking in homeostasis and disease. *Eur J Clin Invest.* 2018;48(S2):e12949.
  55. Hernandez PA, Gorlin RJ, Lukens JN, Taniuchi S, Bohinjec J, Francois F, et al. Mutations in the chemokine receptor gene CXCR4 are associated with WHIM syndrome, a combined immunodeficiency disease. *Nat Genet.* 2003 May;34(1):70–4.
  56. Dale DC, Dick E, Kelley M, Makaryan V, Connelly J, Bolyard AA. Family studies of warts, hypogammaglobulinemia, immunodeficiency, myelokathexis syndrome. *Curr Opin Hematol.* 2020 Jan;27(1):11–7.
  57. Marin-Esteban V, Youn J, Beaupain B, Jaracz-Ros A, Barlogis V, Fenneteau O, et al. Biallelic CXCR2 loss-of-function mutations define a distinct congenital neutropenia entity. *Haematologica.* 2022;107(3):765–9.
  58. Lei KJ, Pan CJ, Shelly LL, Liu JL, Chou JY. Identification of mutations in the gene for glucose-6-phosphatase, the enzyme deficient in glycogen storage disease type Ia. *J Clin Invest.* 1994 May 1;93(5):1994–9.
  59. Beaudet AL, Anderson DC, Michels VV, Arion WJ, Lange AJ. Neutropenia and impaired neutrophil migration in type IB glycogen storage disease. *J Pediatr.* 1980;97(6):906–10.
  60. Visser G, Rake JP, Fernandes J, Labrune P, Leonard JV, Moses S, et al. Neutropenia, neutrophil dysfunction, and inflammatory bowel disease in glycogen storage disease type Ib: Results of the European Study on Glycogen Storage Disease Type I. *J Pediatr.* 2000 Aug 1;137(2):187–91.
  61. Alsultan A, Sokol RJ, Lovell MA, Thurman G, Ambruso DR. Long term G-CSF-induced remission of ulcerative colitis-like inflammatory bowel disease in a patient with glycogen storage disease Ib and evaluation of associated neutrophil function. *Pediatr Blood Cancer.* 2010;55(7):1410–3.
  62. Gerin I, Veiga-da-Cunha M, Achouri Y, Collet JF, Van Schaftingen E. Sequence of a putative glucose 6-phosphate translocase, mutated in glycogen storage disease type Ib1. *FEBS Lett.* 1997;419(2–3):235–8.
  63. Hiraiwa H, Pan CJ, Lin B, Moses SW, Chou JY. Inactivation of the Glucose 6-Phosphate Transporter Causes Glycogen Storage Disease Type Ib \*. *J Biol Chem.* 1999 Feb 26;274(9):5532–6.
  64. Chen SY, Pan CJ, Nandigama K, Mansfield BC, Ambudkar SV, Chou JY. The glucose-6-phosphate transporter is a phosphate-linked antiporter deficient in glycogen storage disease type Ib and Ic. *FASEB J.* 2008;22(7):2206–13.
  65. Jun HS, Weinstein DA, Lee YM, Mansfield BC, Chou JY. Molecular mechanisms of neutrophil dysfunction in glycogen storage disease type Ib. *Blood.* 2014 May 1;123(18):2843–53.
  66. Sim SW, Weinstein DA, Lee YM, Jun HS. Glycogen storage disease type Ib: role of glucose-6-phosphate transporter in cell metabolism and function. *FEBS Lett.* 2020 Jan;594(1):3–18.
  67. Shieh JJ, Pan CJ, Mansfield BC, Chou JY. A glucose-6-phosphate hydrolase, widely expressed outside the liver, can explain age-dependent resolution of hypoglycemia in glycogen storage disease type Ia. *J Biol Chem.* 2003 Nov 21;278(47):47098–103.
  68. Calderwood S, Kilpatrick L, Douglas SD, et al. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor therapy for patients with neutropenia and/or neutrophil dysfunction secondary to glycogen storage disease type Ib. *Blood.* 2001;97(2):376–382.
  69. Ambruso DR, McCabe ER, Anderson D, et al. Infectious and bleeding complications in patients with glycogenosis Ib. *Am J Dis Child.* 1985;139(7):691–697.
  70. Link DC. Mechanisms of leukemic transformation in congenital neutropenia. *Curr Opin Hematol.* 2019 Jan;26(1):34.
  71. Donadieu J, Leblanc T, Meunier BB, Barkaoui M, Fenneteau O, Bertrand Y, et al. Analysis of risk factors for myelodysplasias, leukemias and death from infection among patients with congenital neutropenia. Experience of the French Severe Chronic Neutropenia Study Group. *Haematologica.* 2005 Jan 1;90(1):45–53.
  72. Zeidler C, Vandenberghe P, Schäfer I, Hoy L, Zimmermann M, Germeshausen M, et al. UPDATE On the RISK of SECONDARY LEUKEMIA In GENETIC SUBGROUPS (ELANE, HAX1, WAS, G6PC3, p14) of CONGENITAL NEUTROPENIA In EUROPE. *Blood.* 2011 Nov 18;118:1106–1106.
  73. Klimiankou M, Mellor-Heineke S, Klimenkova O, Reinel E, Uenalan M, Kandabarau S, et al. Two cases of cyclic neutropenia with acquired CSF3R mutations, with 1 developing AML. *Blood.* 2016 May 26;127(21):2638–41.
  74. Kennedy AL, Myers KC, Bowman J, Gibson CJ, Camarda ND, Furutani E, et al. Distinct genetic pathways define pre-malignant versus compensatory clonal hematopoiesis in Shwachman-Diamond syndrome. *Nat Commun.* 2021 Feb 26;12(1):1334.
  75. Donadieu J, Lamant M, Fieschi C, de Fontbrune FS, Caye A, Ouachee M, et al. Natural history of GATA2 deficiency in a survey of 79 French and Belgian patients. *Haematologica.* 2018 Aug;103(8):1278–87.
  76. West RR, Calvo KR, Embree LJ, Wang W, Tuschong LM, Bauer TR Jr, et al. ASXL1 and STAG2 are common mutations in GATA2 deficiency patients with bone marrow disease and myelodysplastic syndrome. *Blood Adv.* 2022 Jan 31;6(3):793–807.
  77. Olofsen PA, Touw IP. RUNX1 Mutations in the Leukemic Progression of Severe Congenital Neutropenia. *Mol Cells.* 2020 Feb 29;43(2):139–44.
  78. Link DC, Kunter G, Kasai Y, Zhao Y, Miner T, McLellan MD, et al. Distinct patterns of mutations occurring in de novo AML versus AML arising in the setting of severe congenital neutropenia. *Blood.* 2007 Sep 1;110(5):1648–55.
  79. Freedman MH, Bonilla MA, Fier C, Bolyard AA, Scarlata D, Boxer LA, et al. Myelodysplasia syndrome and acute myeloid leukemia in patients with congenital neutropenia receiving G-CSF therapy. *Blood.* 2000 Jul 15;96(2):429–36.

80. Skokowa J, Steinemann D, Katsman-Kuipers JE, Zeidler C, Klimenkova O, Klimiankou M, et al. Cooperativity of RUNX1 and CSF3R mutations in severe congenital neutropenia: a unique pathway in myeloid leukemogenesis. *Blood*. 2014 Apr 3;123(14):2229–37.
81. Germeshausen M, Ballmaier M, Welte K. Incidence of CSF3R mutations in severe congenital neutropenia and relevance for leukemogenesis: results of a long-term survey. *Blood*. 2006 Sep 14;109(1):93–9.
82. Touw IP. Game of clones: the genomic evolution of severe congenital neutropenia. *Hematology*. 2015 Dec 5;2015(1):1–7.
83. Hunter MG, Avalos BR. Deletion of a critical internalization domain in the G-CSFR in acute myelogenous leukemia preceded by severe congenital neutropenia. *Blood*. 1999 Jan 15;93(2):440–6.
84. Ward AC, van Aesch YM, Schelen AM, Touw IP. Defective internalization and sustained activation of truncated granulocyte colony-stimulating factor receptor found in severe congenital neutropenia/acute myeloid leukemia. *Blood*. 1999 Jan 15;93(2):447–58.
85. Xia J, Miller CA, Baty J, Ramesh A, Jotte MRM, Fulton RS, et al. Somatic mutations and clonal hematopoiesis in congenital neutropenia. *Blood*. 2018 Jan 25;131(4):408–16.
86. Dong Fan, Brynes Russell K., Tidow Nicola, Welte Karl, Löwenberg Bob, Touw Ivo P. Mutations in the Gene for the Granulocyte Colony-Stimulating-Factor Receptor in Patients with Acute Myeloid Leukemia Preceded by Severe Congenital Neutropenia. *N Engl J Med*. 1995;333(8):487–93.
87. Liu F, Kunter G, Krem MM, Eades WC, Cain JA, Tomasson MH, et al. Csf3r mutations in mice confer a strong clonal HSC advantage via activation of Stat5. *J Clin Invest*. 2008 Mar;118(3):946–55.
88. Olofsen PA, Fatrai S, van Strien PMH, Obenauer JC, de Looper HWJ, Hoogenboezem RM, et al. Malignant Transformation Involving CXXC4 Mutations Identified in a Leukemic Progression Model of Severe Congenital Neutropenia. *Cell Rep Med*. 2020 Aug 25;1(5):100074.
89. Klimiankou M, Kandabarau S, Zeidler C, Steiert I, Pogozhykh D, Dale DC, et al. Accumulation of Specific Somatic Leukemia-Associated Mutations in Congenital Neutropenia Precedes Malignant Transformation - New Preconditions for Treatment Decisions. *Blood*. 2022 Nov 15;140(Supplement 1):994–5.
90. Chown G, Gelfand AS. AGRANULOCYTOSIS. *Can Med Assoc J*. 1933 Aug;29(2):128–34.
91. Gilman PA, Jackson DP, Guild HG. Congenital agranulocytosis: prolonged survival and terminal acute leukemia. *Blood*. 1970 Nov;36(5):576–85.
92. Souza LM, Boone TC, Gabilove J, Lai PH, Zsebo KM, Murdock DC, et al. Recombinant Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor: Effects on Normal and Leukemic Myeloid Cells. *Science*. 1986 Apr 4;232(4746):61–5.
93. Zeidler C, Nickel A, Sykora KW, Welte K. Improved Outcome Of Stem Cell Transplantation for Severe Chronic Neutropenia With Or without Secondary Leukemia: A Long-Term Analysis of European Data For More Than 25 Years By the SCNIR. *Blood*. 2013 Nov 15;122(21):3347.

## Primjena eritropoetina u anemiji nedonoščadi

Jelena Roganović<sup>1</sup>, Paolo Salamon<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zavod za pedijatrijsku hematologiju i onkologiju, Klinika za dječje bolesti Zagreb

<sup>2</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

### Uvod

Jedno od deset novorođenčadi rodi se prije navršenih 37 tjedana gestacije, što čini oko 15 milijuna prijevremenih poroda u svijetu svake godine (1). Prematuritet je glavni uzrok dojenačkog morbiditeta i mortaliteta, posebice povišenog rizika za respiratorni distres, cerebralnu paralizu i zaostatak u razvoju (2). Prevalencija anemije prematuriteta (AP) varira od 6% do 70% u različitim studijama, ovisno o postnatalnoj dobi (3). Glavni uzrok AP je nedovoljna sinteza eritropoetina s posljedičnom smanjenom eritropoezom, a dodatno joj pridonose gubici krvi zbog češćih flebotomija, kraći životni vijek eritrocita, smanjene tkivne zalihe željeza i ubrzan rast (4,5). Osnovu liječenja čine transfuzije eritrocitnih koncentrata. Ne postoje općeprihvaćene smjernice za transfuzijsko liječenje, a primjena rekombinantnog humanog eritropoetina (rHuEpo) je ograničena.

Cilj našeg rada je ispitati učinkovitost rHuEpo u korekciji AP i potrebi za transfuzijama.

### Ispitanici i metode

U ovo retrospektivno istraživanje uključeno je petoro pacijenata (tri muškog i dva ženskog spola) s dijagnozom AP, koji su liječeni rHuEpo-om na Zavodu za hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra (KBC) Rijeka u razdoblju od 1. siječnja 2020. do 31. prosinca 2021. godine. Podatci su prikupljeni iz Integriranog bolničkog informacijskog sustava (IBIS) i iz arhive Klinike za pedijatriju KBC-a Rijeka. rHuEpo je apliciran potkožno u pojedinačnoj dozi od 250 I.J./kg/ 3 puta tjedno (tjedna doza 750 I.J./kg). Hematološki parametri (eritrociti, hemoglobin, retikulociti) su kontrolirani 1x tjedno od početka liječenja rHuEpo do 4 – 6 tjedana nakon završetka primjene rHuEpo. Za statističku obradu podataka korišteni su neparametrijski testovi (Kruskal-Wallisov i Friedmanov test).

### Rezultati

Prosječna gestacijska dob ispitanika iznosila je 228 dana (32 tjedna + 4 dana), s rasponom od 210 dana (30 tjedana + 0 dana) do 270 dana (34 tjedna + 3 dana). U četiri trudnoće su opisane komplikaci-

je (2 intrauterini zastoj rasta i 2 vaginalno krvarenje) i dovršene su carskim rezom. Prosječna rodna masa pacijenata iznosila je 1470 grama (raspon 1230 – 1720 grama). Indeks vitalnosti po Apgarovoj je u troje novorođenčadi bio uredan (8/10 – 10/10), a u dvoje blago snižen (6/10 i 7/10).

U četiri pacijenta su u anamnezi bila prisutna patološka stanja u novorođenačkom razdoblju: rana novorođenačka žutica (1 pacijent), novorođenačka žutica i intraventrikularno krvarenje (1 pacijent), rana novorođenačka sepsa i intraventrikularno krvarenje (1 pacijent) te sindrom respiratornog distresa (1 pacijent).

Prosječna dob na početku terapije rHuEpo bila je 59 dana (raspon 39 – 94 dana). Dvoje dojenčadi je hranjeno majčinim mlijekom uz dohranu mliječnom formulom (tvornički dojenački mliječni pripravak), a troje isključivo mliječnom formulom. Svi pacijenti su imali na prijemu uredne vitalne parametre. Prosječna duljina hospitalizacije iznosila je 4 dana (raspon 2 – 30 dana).

Prosječna duljina terapije rHuEpo iznosila je 32 dana (raspon 22 do 42 dana). Peroralno željezo (feromaltoza, 2 – 3 mg/kg/dan) je primalo svih 5 pacijenata, a 3 pacijenta su primala uz željezo i peroralnu folnu kiselinu (1 mg/dan). Osnovne karakteristike pacijenata prikazane su na Tablici 1.

**Tablica 1. Osnovne karakteristike pacijenata s anemijom prematuriteta.**

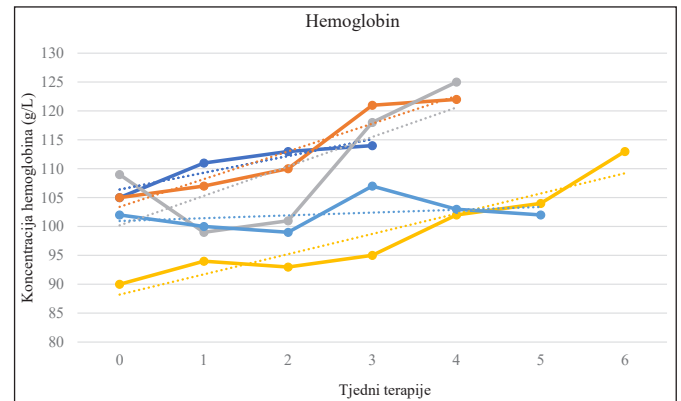
<b>Spol</b>	N
Muški	3
Ženski	2
<b>Trudnoća</b>	N
Komplicirana	4
Nekomplicirana	1
<b>Porod</b>	N
Vaginalni	4
Carski rez	1
<b>Gestacijska dob (tjedni + dani)</b>	32 + 4 (30 + 0 do 34 + 3)

<b>Rodna masa (grami)</b>	1470 (1230 – 1720)
<b>Apgar indeks</b>	N
Normalan	3
Snižen	2
<b>Patološka stanja u novorođenačkom razdoblju</b>	N
Prisutna	4
Odsutna	1
<b>Prehrana</b>	N
Isključivo majčino mlijeko	0
Majčino mlijeko + mliječna formula	2
Isključivo mliječna formula	3
<b>Dob na početku terapije rHuEpo (dani)</b>	59 (39 – 94)
<b>Supstitucijska terapija željezom</b>	N
Da	5
Ne	0
<b>Supstitucijska terapija folnom kiselinom</b>	N
Da	3
Ne	2
<b>Duljina terapije rHuEpo (dani)</b>	32 (22 – 42)
<b>Duljina hospitalizacije (dani)</b>	4 (2 – 30)

Apgar indeks (indeks vitalnosti po Apgarovoj ili Apgar score) = jednostavan sustav bodovanja za brzu procjenu vitalnosti novorođenčeta; rHuEpo = rekombinantni humani eritropoetin

Prosječna vrijednost broja eritrocita prije primjene rHuEpo iznosila je  $3,43 (\pm 0,43) \times 10^{12}/L$ , a mjesec dana nakon početka liječenja  $4,43 (\pm 0,41) \times 10^{12}/L$  ( $p < 0,002$ ). Prosječna vrijednost broja retikulocita prije liječenja bila je  $27,7 (\pm 12,2) \%$ , a jedan tjedan nakon početka liječenja  $69,8 (\pm 34,6) \%$  ( $p < 0,014$ ) (Slika 2). Prosječna vrijednost koncentracije hemoglobina prije primjene rHuEpo bila je  $102,2 (\pm 7,2) g/L$ , a nakon jedan mjesec  $115,4 (\pm 8,6) g/L$  ( $p < 0,025$ ) (Slika 1).

**Slika 1. Vrijednosti koncentracije hemoglobina tijekom primjene rekombinantnog humanog eritropoetina.**



Prosječna tjelesna masa prije početka liječenja iznosila je  $3,29 (\pm 0,49) kg$ , a nakon 1 mjesec  $4,47 (\pm 0,13) kg$  ( $p < 0,009$ ). U niti jednog pacijenta nisu zamijećene komplikacije terapije rHuEpo. Transfuziju eritrocitnih koncentrata nije primio nijedan pacijent.

## Rasprava

Anemija je česta u prijevremeno rođene djece, posebice u one rođene prije 32. tjedna gestacije (6). Za nastanak AP odgovorna su tri osnovna patofiziološka mehanizma: neadekvatno stvaranje eritrocita u razdoblju ubrzanog rasta, skraćen životni vijek eritrocita i gubitak krvi. Oslabljena eritropoeza posljedica je smanjene sinteze i povećanog klirensa endogenog eritropoetina. Prosječni životni vijek eritrocita novorođenčeta iznosi polovicu do dvije trećine životnog vijeka eritrocita odrasle osobe, a eritrociti najnezrelije novorođenčadi žive samo 35 do 50 dana. Skraćeni životni vijek eritrocita kod novorođenčeta rezultat je smanjene razine adenozin trifosfata (ATP), karnitina i enzimske aktivnosti u stanicama, povećane osjetljivosti na lipidnu peroksidaciju i povećane osjetljivosti stanične membrane na fragmentiranje. Zbog potrebe za pomnim praćenjem vrlo male novorođenčadi, često je uzorkovanje krvi za različite pretrage, s gubitcima 5 do 10% ukupnog volumena krvi (7,8).

Većina nedonoščadi prima transfuzije eritrocitnih koncentrata za korekciju anemije, a odluke za transfuziju temeljene su na razini hemoglobina, kliničkim pokazateljima i potrebi za kisikom (6). Terapija rHuEpo u AP bila je predmet mnogih istraživanja s različitim rezultatima. U studiji El-Lahony i suradnika, terapija rHuEpo ( $250 I.J./kg/d$ , 3 puta tjedno kroz 4 tjedna) u kombinaciji s nadoknadom željeza, vitamina E i folne kiseline, učinkovito je stimulirala eritropoezu i značajno smanjila potrebu

za transfuzijama u 60 novorođenčadi i dojenčadi s AP (9). Shannon i suradnici su pokazali da liječenje r-HuEPO u tjednoj dozi od 500 I.J./kg (100 I.J./kg/d, 5 puta tjedno) uz dodatak peroralnog željeza stimulira eritropoezu, ublažava tijek anemije i smanjuje potrebu za transfuzijama u 157 nedonoščadi (26,9 ± 1.6 tjedna gestacije) vrlo niske rodne mase (924 ± 183 grama) (10). U multicentričnom istraživanju Donata i suradnika koje je uključilo 114 dojenčadi rodne mase < 1250 grama, rana primjena rHuEPO (1250 I.J./kg/tjedan, od 2. do 14. dana života) bila je udružena s porastom broja retikulocita, ali nedovoljnim da smanji potrebu za transfuzijom (11). Primjena rHuEpo u našem istraživanju rezultirala je značajnom retikulocitozom nakon jednog tjedna, te porastom broja eritrocita i koncentracije hemoglobina nakon 4 tjedna primjene.

rHuEpo je rekombinantni analog endogenog eritropoetina. Veže se za receptore na površini eritroidnih prekursora u koštanoj srži, aktivirajući signalnu kaskadu koja potiče staničnu proliferaciju i diferencijaciju te sprječava apoptozu (12,13). Za učinkovitu eritropoezu je ključno održavanje razine eritropoetina u krvi, a ne vršna koncentracija. Stoga je potkožna primjena rHuEpo učinkovitija od intravenske. Jedinstvene smjernice ne postoje, a najčešće se preporučaju pojedinačne doze od 250 I.J./kg, tri puta tjedno (ukupna tjedna doza 750 I.J./kg) kroz 4 do 6 tjedana (14). Tipičan je porast hemoglobina 2 do 6 tjedana nakon početka liječenja (13).

Primjena eritropoetina u liječenju AP smanjuje potrebu davanja transfuzija za 60% (15).

Primjena eritropoetina je eliminirala potrebu za transfuzijom u svih naših pacijenata, a time i rizik transfuzijskih komplikacija. Preliminarni rezultati ovog istraživanja upućuju na učinkovitost rHuEpo u liječenju AP.

#### Literatura:

1. March of Dimes, PMNCH, Save The Children. Born Too Soon: The Global Action Report on Preterm Birth. Eds Howson CP, Kinney MV, Lawn JE. World Health Organization. Geneva; 2012. Dostupno na: [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44864/9789241503433\\_eng.pdf;jsessionid=D8CC67C1F932134E421D81B3846A383A?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44864/9789241503433_eng.pdf;jsessionid=D8CC67C1F932134E421D81B3846A383A?sequence=1). [Citirano 2024, rujan 19].
2. Morniroli D, Tiraferri V, Maiocco G, Umberto De Rose D, Cresi F, Coscia A, et al. Beyond survival: the lasting effects of premature birth. *Front Pediatr*. 2023;11:1213243.
3. Kalezi ZE, Kisenge R, Naburi H, Simbila AN, Mkony M, Leyna G. Prevalence of anaemia and associated factors among preterm infants at six weeks chronological age at Muhimbili National Hospital, Dar es Salaam, Tanzania: a cross-sectional study. *Pan Afr Med J*. 2023;44:193.
4. Garcia-Prats JA. Anemia of prematurity. In: Abrams SA, Mahoney DH, Kim MS (eds.). UpToDate; 2022. Dostupno na: <https://www.uptodate.com/contents/anemia-of-prematurity/>. [Citirano 2024, rujan 21].
5. Strauss RG. Anaemia of prematurity: pathophysiology and treatment. *Blood Rev*. 2010;24(6):221–5.
6. Ohlsson A, Aher SM. Early erythropoiesis-stimulating agents in preterm or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;11:cd004863.
7. Cassady G. Anemia of Prematurity. Medscape; 2022. Dostupno na: <https://emedicine.medscape.com/article/978238>. [Citirano 2024, rujan 21].
8. den Besten G, van der Weide K, Schuerman F, Michael Cotten C, Rondeel JMM. Establishing the cause of anemia in a premature newborn infant. *Lab Med*. 2018;49(3):e74–e77.
9. El-Lahony DM, Saleh NY, Habib MS, Shehata MA, El-Hawy MA. The role of recombinant Human erythropoietin in neonatal anemia. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2020;13(3):147–51.
10. Shannon KM, Keith JF 3rd, Mentzer WC, Ehrenkranz RA, Brown MS, Widness JA, et al. Recombinant human erythropoietin stimulates erythropoiesis and reduces erythrocyte transfusions in very low birth weight preterm infants. *Pediatrics*. 1995;95(1):1–8.
11. Donato H, Vain N, Rendo P, Vivas N, Prudent L, Larguía M, et al. Effect of early versus late administration of human recombinant erythropoietin on transfusion requirements in premature infants: results of a randomized, placebo-controlled, multicenter trial. *Pediatrics*. 2000;105(5):1066–72.
12. Elliott S, Pham E, Macdougall IC. Erythropoietins: a common mechanism of action. *Exp Hematol*. 2008;36(12):1573–84.
13. Schoener B, Borger J. Erythropoietin Stimulating Agents. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536997/>. [Citirano 2024, rujan 24].
14. Rigourd V, Kieffer F, Dommergues MA, Ayachi A, Assaf Z, Mohamed I, et al. Erythropoietin administration to preterm infants: comparison between subcutaneous and intravenous route. *Arch Pediatr*. 2004;11(4):319–26.
15. Zaputović S, Krajina R, Samardžija R, Prpić I. Anemija u nedonoščadi: značenje humanoga rekombinantnog eritropoetina. *Medicina*. 2003;39(1):42–5.

## Promjene limfomskog konsenzusa

### Igor Aurer

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

Na proljetnom sastanku Krohema održanom u Trogiru u svibnju 2024. usvojene su sljedeće promjene 4. limfomskog konsenzusa:

#### Općenite napomene

Među preporučene metode za smanjenje rizika neplodnosti žena uvrštena je nova metoda, krio-prezervacija tkiva jajnika. Specificirano je koje se preporuke za upotrebu inhibitora Brutonove tirozin kinaze (iBTK) odnose na 1. i 2. (ibrutinib, akalabrutinib i zanubrutinib), u odnosu na 3. generaciju (pirtobrutinib).

#### Indolentni B-NHL

Preporuka da se lokaliziranost treba potvrditi PET-om ograničena je na nodalne limfome. Razjašnjeno je da se ekстранodalni indolentni limfomi u kasnijim linijama mogu liječiti kao nodalni, a nodalni kao agresivni.

#### Limfom plaštenih stanica (MCL)

Preporučena terapijska opcija (sa zvjezdicom jer nije na listi lijekova HZZO-a pa primjena ovisi o financijskim mogućnostima ustanove) za 1. liniju transplantabilnih bolesnika, pogotovo onih s pojačanim izražajem ili mutacijom *p53*, postala je alternativna primjena R-CHOP + iBTK 1. ili 2. generacije / R-DHAP. U bolesnika koji takvom uvodnom terapijom postignu remisiju nije više nužna ATKS, ali u terapiji održavanja treba dodati iBTK tijekom 2 godine. Preporučena terapija za bolesnike u relapsu koji nisu refraktorni na iBTK je iBTK 1. ili 2. generacije ± R ± venetoklaks, a u opcije za one koji jesu su dodani pirtobrutinib i bispecifična protutijela.

#### Agresivni sustavni B-NHL

Rituksimab se u kombinaciji s kemoterapijom u kasnijim linijama liječenja može koristiti i u bolesnika koji su refraktorni ili u ranom relapsu. Sve vrste sustavnih agresivnih B-NHL se u kasnijim linijama mogu liječiti kao B-LCL.

#### Primarni B-velikostanični limfom središnjeg živčanog sustava

Modificiran je broj aplikacija visokih doza citarabina po ciklusu MATRIX protokola, tako da sada iznosi 2-4. Među preporučene protokole za kondicioniranje bolesnika prije ATKS je dodan TEAM. Za kasnije linije je preporučena terapijska opcija postala primjena CAR-T stanica.

#### T/NK NHL

FC je dodan kao palijativna opcija u kasnijim linijama liječenja. NK stanične limfome, koji su postigli remisiju kasnijim linijama liječenja, treba, ako su za to podesni, alotransplantirati.

#### Klasični HL

Razjašnjeno je da se Deauville 3 nalaz PET-a u svim situacijama smatra negativnim. BrECADD je postao terapija izbora za mlađe bolesnike s novootkrivenom proširenom bolesti. U alternativne opcije je dodana kombinacija AVD s s inhibitorima PD1 (iPD1). Kao jednakovrijedne terapijske opcije za prvu liniju liječenja starijih bolesnika su uz konvencionalni AVD+Bv (brentuksimab vedotin) dodani konkomitantni AVD+Bv i AVD+iPD1. U preporučene kemoterapijske protokole za 2. liniju liječenja transplantabilnih bolesnika je dodan GDP, a sve protokole bi bilo dobro kombinirati s Bv ili iPD1.



## Nove Hrvatske smjernice za liječenje bolesnika s multiplim mijelomom i srodnim bolestima plazma stanica – 2024. godina

Sandra Bašić-Kinda<sup>1</sup>, Josip Batinić<sup>1,2</sup>, Toni Valković<sup>3,4,5</sup>, Dražen Pulanić<sup>1,2</sup>, Delfa Radić-Krišto<sup>2,6,7</sup>,  
Jasminka Sinčić-Petričević<sup>8</sup>, Mario Piršić<sup>9</sup>, Goran Rinčić<sup>10</sup>, Davor Galušić<sup>11</sup>

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

<sup>2</sup> Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

<sup>3</sup> Specijalna bolnica Mediko, Rijeka

<sup>4</sup> Odjel za onkologiju i hematologiju, Opća bolnica Pula

<sup>5</sup> Fakultet zdravstvenih studija Sveučilišta u Rijeci

<sup>6</sup> Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinička bolnica Merkur

<sup>7</sup> Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

<sup>8</sup> Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Osijek

<sup>9</sup> Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinička bolnica Dubrava

<sup>10</sup> Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice

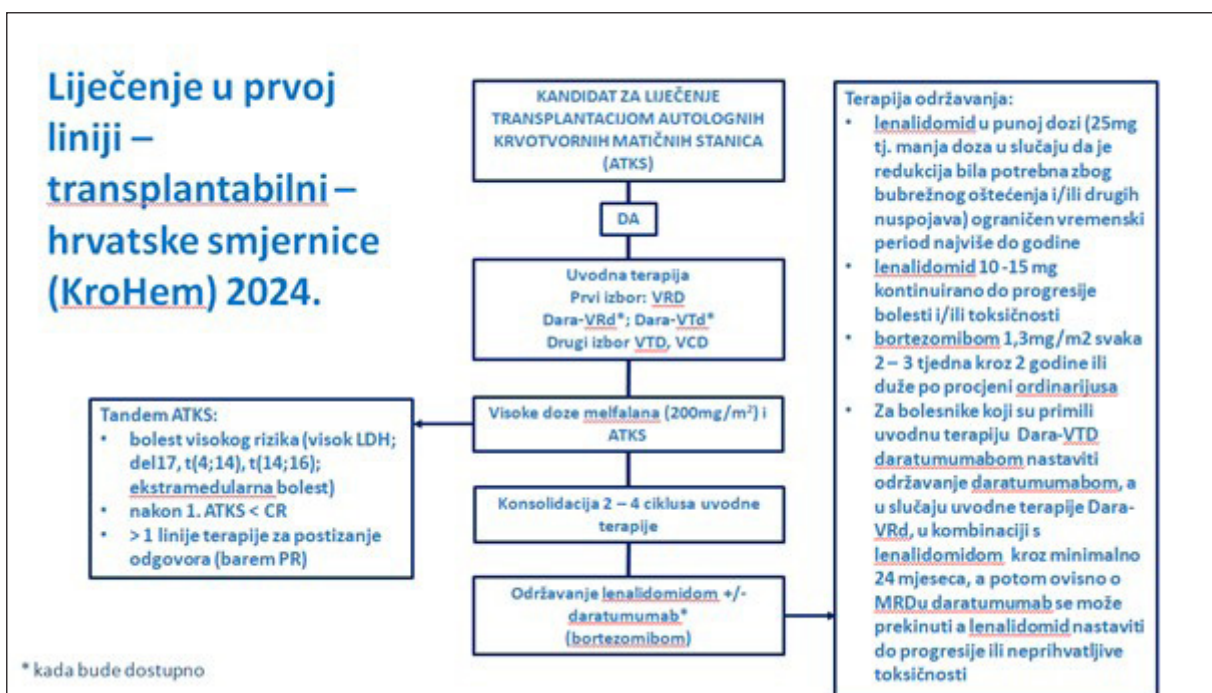
<sup>11</sup> Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Split

Na sastanku Krohema u Trogiru u svibnju 2024. godine u sklopu Radne skupine za multipli mijelom Krohema predstavljene su nove Hrvatske smjernice za liječenje bolesnika s multiplim mijelomom (MM) i srodnim bolestima plazma stanica, a sada ih donosimo u tiskanoj formi.

### I. Preporuke za liječenje novodijagnosticiranih bolesnika s MM koji su kandidati za liječenje transplantacijom autolognih krvotvornih matičnih stanica (< 70-75 godina, bez značajnih komorbiditeta)

Opći principi liječenja: provesti liječenje uvodnom terapijom i u slučaju zadovoljavajućeg odgovora prikupiti autologne krvotvorne matične stanice. Nakon prikupljanja, a do transplantacije preporuča se nastaviti liječenje uvodnom terapijom u cilju očuvanja odgovora na liječenje. Provesti jednu ili tzv. tandem transplantaciju. Nakon transplantacije provesti konsolidacijsku terapiju koja se sastoji od 2 – 4 ciklusa kao u uvodnoj terapiji te potom nastaviti liječenje terapijom održavanja (Slika 1).

**Slika 1. Liječenje MM u prvoj liniji – transplantabilni bolesnici.**



## 1. Uvodna terapija za novodijagnosticirane bolesnike koji su kandidati za liječenje transplantacijom autolognih krvotvornih matičnih stanica:

- bortezomib, lenalidomid, deksametazon (VRD) – uvodna terapija 4 - 6 ciklusa (IIB)
- Daratumumab, lenalidomid, bortezomib, deksametazon (Dara-VRD) (IA) \*
- Daratumumab, talidomid, bortezomib, deksametazon (Dara-VTD) (IA) \*

U slučaju da prvi izbor nije opcija:

- bortezomib, talidomid, deksametazon (VTD) (IA)
- bortezomib, ciklofosamid, deksametazon (VCD) (IIB).

Ukoliko se postigne zadovoljavajući odgovor (barem parcijalna remisija ili bolje od toga) planirati prikupljanje autolognih krvotvornih matičnih stanica nakon 3, najviše 4 ciklusa. U slučaju da se koriste alternativni protokoli (VTD, VCD) prikupljanje se može učiniti nakon 4 – 6 ciklusa.

\*kada navedeni lijekovi i kombinacije lijekova budu odobreni od strane HZZO-a.

## 2. Transplantacija autolognih krvotvornih matičnih stanica uz visoke doze melfalana (melfalan 200mg/m<sup>2</sup>; u slučaju bubrežnog oštećenja 140mg/m<sup>2</sup>) (IA):

- jedna transplantacija: za sve koji su kandidati za ovu vrstu liječenja (IA)
- tandem transplantacija:
  - kod bolesnika koji kod dijagnoze imaju bolest visokog rizika (povišen LDH; citogenetske promjene visokog rizika: del17, t(4;14), t(14;16), t(14;20))
  - abnormalnosti kromosoma 1 (gain ili amp 1q; ili del 1p); ekstramedularna bolest)
  - kod bolesnika koji nakon prve transplantacije nisu postigli kompletnu remisiju bolesti
  - kod bolesnika u kojih je bilo potrebno više od jedne linije terapije za postizanje odgovora (barem parcijalne remisije).

## 3. Terapija konsolidacije nakon transplantacije:

preporuča se provesti 2 - 4 ciklusa iste terapije koja je korištena kao uvodna terapija (VRD; VTD; VCD, Dara-VRD, Dara-VTD).

Odluka o provođenju konsolidacijske terapije ovisi o ordinirajućem hematologu ovisno o karakteristikama bolesnika i bolesti (IIB).

## 4. Terapija održavanja

4.1. Za bolesnike koji su kao uvodnu terapiju primali kombinaciju s lenalidomidom (VRD) preporuča se terapija održavanja:

- lenalidomid u punoj dozi (25mg tj. manja doza u slučaju da je redukcija bila potrebna zbog bubrežnog oštećenja i/ili drugih nuspojava) ograničen vremenski period najviše do godine (IA).

ILI

- lenalidomid u dozi od 10 -15 mg kontinuirano do progresije bolesti i/ili pojave nepodnošljive toksičnosti (IA).

Odabir terapije održavanja lenalidomidom ograničen vremenski period ili kontinuirano ovisi o odluci ordinirajućeg hematologa, tijekom liječenja, toksičnosti terapije (nuspojave) te odabiru bolesnika.

4.2. Za bolesnike koji su primali uvodnu terapiju bez lenalidomida (VTD, VCD) preporuča se terapija održavanja:

- bortezomib u standardnoj dozi 1,3mg/m<sup>2</sup> (ili reduciranoj ukoliko je to potrebno) svaka 2 – 3 tjedna kroz 2 godine ili i duže po procjeni ordinarijusa (IIB).

ILI

- jedan ciklus uvodne terapije (VCD; VTD) svaka 2 – 3 mjeseca kroz 2 godine ili i duže po procjeni ordinarijusa (IIB).

4.3. Za bolesnike koji su primili uvodnu terapiju daratumumab-VTD nastaviti održavanje daratumumabom do progresije ili neprihvatljive toksičnosti a u slučaju uvodne terapije daratumumab-VRD održavati kombinacijom daratumumaba i lenalidomidom kroz minimalno 24 mjeseca, a potom ovisno o stanju bolesti (postizanje kompletne remisije uz negativnu minimalnu rezidualnu bolest) daratumumab se može prekinuti, a lenalidomid nastaviti do progresije ili neprihvatljive toksičnosti.

4.4. Za bolesnike visokog rizika koji su u uvodnoj terapiji liječeni bortezomibom i lenalidomidom terapiji održavanja se

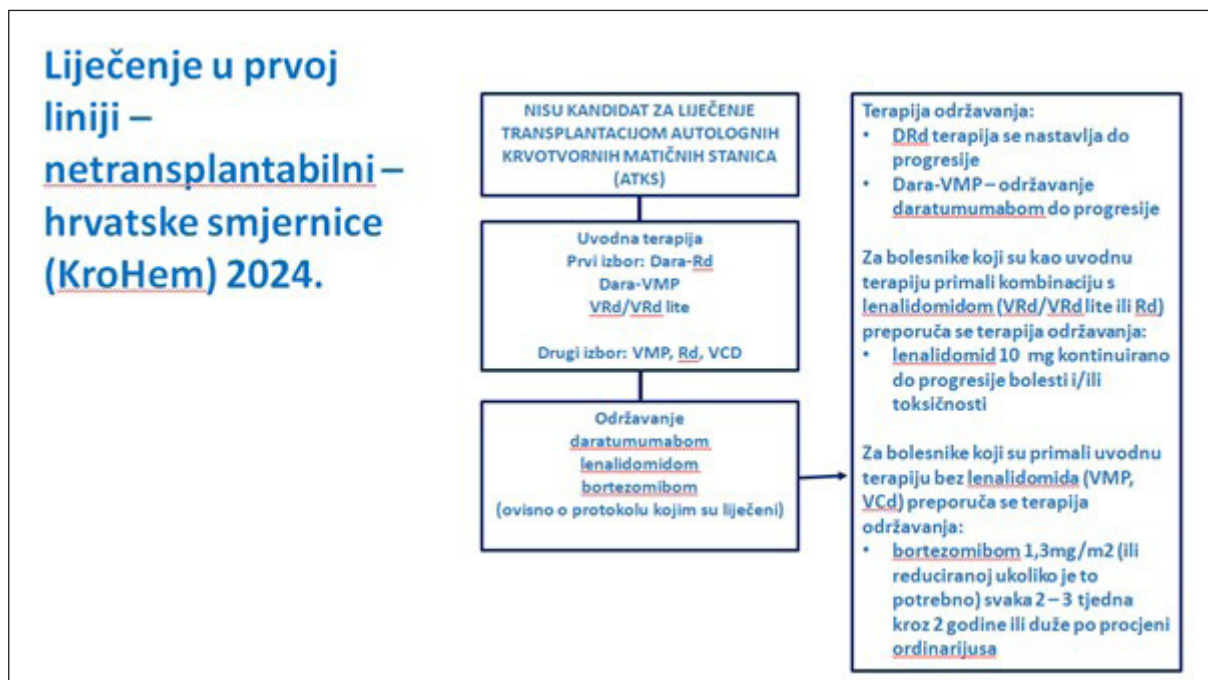
uz lenalidomid preporuča pridodati i bortezomib.

## transplantacijom autolognih krvotvornih matičnih stanica (>70-75 godina i/ili prisustvo značajnog komorbiditeta)

## II. Preporuke za liječenje novodijagnosticiranih bolesnika s MM koji nisu kandidati za liječenje

Opći principi liječenja ove skupine bolesnika je provesti uvodnu terapiju, te potom nastaviti terapiju održavanja ovisno o uvodnom protokolu (**Slika 2.**).

**Slika 2. Liječenje MM u prvoj liniji – netransplantabilni bolesnici.**



### 1. Uvodna terapija za bolesnike koji nisu kandidati za liječenje transplantacijom autolognih krvotvornih matičnih stanica:

- 1.1. Daratumumab, lenalidomid, deksametazon (DRd) (IA)
- 1.2. Daratumumab, bortezomib, melfalan, deksametazon (IA).

Ukoliko bolesnik nije kandidat za liječenje daratumumabom razmotriti sljedeće opcije:

- 1.3. bortezomib, lenalidomid, deksametazon (VRd ili VRd lite- lenalidomid kroz 14 dana) kroz 8 – 12 ciklusa (IA)
- 1.4. lenalidomid i deksametazon (Rd) – provesti liječenje kroz najmanje 12 mjeseci, a u slučaju dobrog podnošenja i/ili izostanka nuspojava razmotriti i duže (do 24 mjeseca) (IA)
- 1.5. bortezomib, melfalan, deksametazon (VMP) kroz 8 – 12 ciklusa (IA)
- 1.6. bortezomib, ciklofosamid, deksametazon (VCd) kroz 8-12 ciklusa (IA).

se nastavlja do progresije bolesti ili neprihvatljive toksičnosti.

- 2.2. Za bolesnike liječenje Dara-VMP nastaviti održavanje daratumumabom do progresije bolesti ili neprihvatljive toksičnosti.
- 2.3. Za bolesnike koji su kao uvodnu terapiju primali kombinaciju s lenalidomidom (VRd/VRd lite ili Rd) preporuča se terapija održavanja:
  - a) lenalidomid u dozi od 10 mg kontinuirano do progresije bolesti i/ili pojave nepodnošljive toksičnosti (IA).
- 2.4. Za bolesnike koji su primali uvodnu terapiju bez lenalidomida (VMP, VCd) preporuča se terapija održavanja:
  - a) bortezomib u standardnoj dozi 1,3mg/m<sup>2</sup> (ili reduciranoj ukoliko je to potrebno) svaka 2 – 3 tjedna kroz 2 godine ili duže po procjeni ordinarijusa (IIB)

ILI

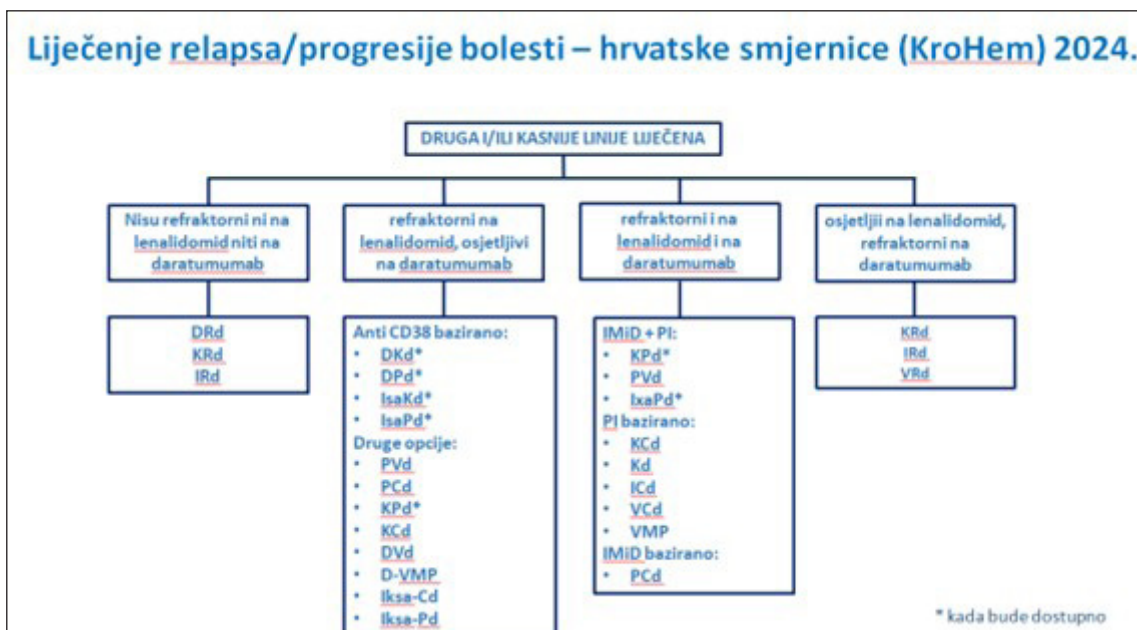
### 2. Terapija održavanja

- 2.1. Za bolesnike liječene DRd terapija

- b) jedan ciklus uvodne terapije (VMP,VCd) svaka 2 – 3 mjeseca kroz 2 godine ili i duže po procjeni ordinarijusa (IIB).

### III. Liječenje bolesnika u relapsu/progresiji bolesti (neovisno o tome jesu li liječeni transplantacijom autolognih krvotvornih matičnih stanica)

Slika 3. Liječenje relapsa/progresije MM.



#### 1. Bolesnici koji nisu refraktorni ni na lenalidomid ni na daratumumab

- 1.1. preporuča se terapija bazirana na lenalidomidu:
- daratumumab, lenalidomid, deksametazon (DRd) (IA)
  - karfilzomib, lenalidomid, deksametazon (KRd) (IA)
  - iksazomib, lenalidomid, deksametazon (IRd) (IA).

#### 2. Bolesnici koji su refraktorni na lenalidomid, a osjetljivi na daratumumab

- 2.1. Preporuča se terapija bazirana na anti-CD38 protutijelima:
- daratumumab, karfilzomib, deksametazon (DKd) (IA)\*
  - isatuksimab, karfilzomib, deksametazon (IsaKd) (IA)\*
  - daratumumab, pomalidomid, deksametazon (DPd) (IA)\*
  - isatuksimab, pomalidomid, deksametazon (Isa-Pd) (IA)\*

Preporuča se liječenje onim protokolom kojim bolesnik do sada nije liječen. Odluka o terapiji donosi se ovisno o tome kojim je protokolom bolesnik bio do sada liječen, na koje lijekove je refraktoran i koju terapiju bolesnik može podnijeti. Potrebno je također u obzir uzeti toksičnost prethodne terapije te ostale karakteristike i preferencije bolesnika te odlike same bolesti. Liječenje se načelno provodi do progresije bolesti (Slika 3).

Kao alternativne opcije preporučuju se:

- terapija bazirana na pomalidomidu:
  - pomalidomid, bortezomib, deksametazon (PVd) (IA)
  - pomalidomid, ciklofosamid, deksametazon (PCd).
- terapija bazirana na karfilzomibu:
  - karfilzomib, pomalidomid, deksametazon (KPd)
  - karfilzomib, deksametazon (Kd)
  - karfilzomib, ciklofosamid, deksametazon (KCd).
- terapija bazirana na iksazomibu:
  - Iksazomib, pomalidomid, deksametazon (Ixa-Pd)
  - Iksazomib, ciklofosamid, deksametazon (Ixa-Cd).
- terapija bazirana na bortezomibu:
  - bortezomib, daratumumab, deksametazon (DVd) (IA)

- b) daratumumab, bortezomib, melfalan, prednizon (Dara-VMP).
- 3. Bolesnici koji su refraktorni i na lenalidomid i na daratumumab**
- 3.1. terapija bazirana na kombinaciji imunomodulatora i inhibitora proteasoma:
- pomalidomid, karfilzomib, deksametazon (KPd)\*
  - pomalidomid, bortezomib, deksametazon (PVd)
  - pomalidomid, iksazomib, deksametazon (IPd).\*
- 3.2. terapija bazirana na kombinaciji inhibitora proteasoma i citostatika:
- karfilzomib, ciklofosamid, deksametazon (KCd)
  - karfilzomib, deksametazon (Kd)
  - iksazomib, ciklofosamid, deksametazon (ICd)
  - bortezomib, ciklofosamid, deksametazon (VCd)
  - bortezomib, melfalan, prednizon (VMP).
- 3.3 terapija bazirana na pomalidomidu i citostatiku:
- pomalidomid, ciklofosamid, deksametazon (PCd).

- 4. Bolesnici koji su refraktorni na daratumumab, a osjetljivi na lenalidomid**
- 4.1. terapija bazirana na kombinaciji inhibitora proteasoma i lenalidomida:
- karfilzomib, lenalidomid, deksametazon (KRd)
  - bortezomib, lenalidomid, deksametazon (VRd)
  - iksazomib, lenalidomid, deksametazon (IRd).

U bolesnika koji su liječeni transplantacijom autolognih krvotvornih matičnih stanica, a u kojih je provedena samo jedna transplantacija i od nje prošlo > 24-36 mjeseci, razmotriti liječenje drugom transplantacijom (ukoliko je bolesnik postigao barem parcijalnu remisiju te je sposoban podnijeti takvu vrstu liječenja).

\*kada navedeni lijekovi i kombinacije lijekova budu odobrene od strane HZZO-a.

#### IV. Liječenje bolesnika refraktornih na sve tri klase lijekova (inhibitore proteasoma, imunomodulatore i anti-CD38 monoklonska protutijela)

Ovi bolesnici su kandidati za liječenje bispecifičnim protutijelima (elranatamab, teklistamab, talquetamab) ili CAR-T staničnom terapijom kao i terapijom baziranom na selineksoru, belanatamab mafodotiu ili venetoklaksu ukoliko imaju translokaciju (11;14) (Slika 4.).

Slika 4. Liječenje bolesnika s MM refraktornih na tri klase lijekova.



### 1.1 Bispecifična protutijela

- a) elranatamab (bispecifično protutijelo usmjereno na BCMA)\*
- b) teklistamab (bispecifično protutijelo usmjereno na BCMA)\*
- c) talquetamab (bispecifično protutijelo usmjereno na GPRC5D).\*

\*kada navedeni lijekovi i kombinacije lijekova budu odobrene od strane HZZO-a.

#### POSEBNA NAPOMENA

Važno je napomenuti da su bispecifična protutijela koja su usmjerena na različite antigene učinkovita ukoliko se primjenjuju jedna nakon drugih (npr. primjena talquetamaba nakon anti-BCMA usmjerenih bispecifičnih protutijela pokazala se učinkovitom, kao i obrnuto).

### 1.2. CAR-T stanična terapija

- a) idecaptivegen viclelucel \*
- b) ciltacabtagene autoleucel \*

\*kada navedeni lijekovi i kombinacije lijekova budu odobrene od strane HZZO-a.

#### POSEBNA NAPOMENA

Važno je napomenuti da su bispecifična protutijela učinkovita nakon CAR-T stanične terapije i obrnuto, čak i ako su usmjerena na iste antigene (npr. BCMA).

### 1.3. Konjugirano protutijelo s citostatikom

- a) belantamab mafodotin kao monoterapija ili u kombinaciji s drugim lijekovima\*

### 1.4. Ciljani lijekovi

- a) selineksor s bortezumibom i/ili deksametazonom \*
- b) venetoklaks s bortezumibom i/ili deksametazonom u bolesnika s translokacijom (11;14)\*

\*kada navedeni lijekovi i kombinacije lijekova budu odobrene od strane HZZO-a.

#### ALTERNATIVNE OPCIJE

Ukoliko ovi bolesnici nisu liječeni nekim od uobičajenih lijekova kao što su karfilzomib, iksazomib, pomalidomid, ciklofosfamid ili melfalan, mogu biti liječeni nekom od kombinacija ovih lijekova.

Treba napomenuti da za sve ove bolesnike ostaje i opcija liječenja kemoterapijom (npr. PACE, VAD, MP i slično).

#### Literatura:

1. Usmani SZ, Hoering A, Cavo M, et al. Clinical predictors of long-term survival in newly diagnosed transplant eligible multiple myeloma - an IMWG Research Project. *Blood Cancer J.* 2018;8:123.
2. Kumar S, Paiva B, Anderson KC, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2016;17: e328-e346.
3. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15:e538-548.
4. Rajkumar SV, Landgren O, Mateos MV. Smoldering multiple myeloma. *Blood.* 2015;125:3069-3075.
5. Landgren CO, Chari A, Cohen YC, et al. Daratumumab monotherapy for patients with intermediate-risk or high-risk smoldering multiple myeloma: a randomized, open-label, multicenter, phase 2 study (CENTAURUS). *Leukemia.* 2020;34:1840-1852.
6. Cavo M, Gay F, Patriarca F, et al. Double autologous stem cell transplantation significantly prolongs progression-free survival and overall survival in comparison with single autotransplantation in newly diagnosed multiple myeloma: an analysis of phase 3 EMN02/HO95 study. *Blood.* 2017;130(suppl 1):401.
7. Attal M, Lauwers-Cances V, Hulin C, et al. Lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone with transplantation for myeloma. *N Engl J Med.* 2017;376:1311-1320.
8. Cavo M, Gay F, Beksac M, et al. Autologous haematopoietic stem-cell transplantation versus bortezomib-melphalan-prednisone, with or without bortezomib-lenalidomide-dexamethasone consolidation therapy, and lenalidomide maintenance for newly diagnosed multiple myeloma (EMN02/HO95): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet Haematol.* 2020;7:e456-e468.
9. Sonneveld P, Goldschmidt H, Rosinol L, et al. Bortezomib-based versus nonbortezomib-based induction treatment before autologous stem cell transplantation in patients with previously untreated multiple myeloma: a meta-analysis of phase III randomized, controlled trials. *J Clin Oncol.* 2013;31:3279-3287.
10. Moreau P, Hulin C, Macro M, et al. VTD is superior to VCD prior to intensive therapy in multiple myeloma: results of the prospective IFM2013-04 trial. *Blood.* 2016;127:2569-2574.
11. Mai EK, Bertsch U, Durig J, et al. Phase III trial of bortezomib, cyclophosphamide and dexamethasone (VCD) versus bortezomib, doxorubicin and dexamethasone (PAD) in newly diagnosed myeloma. *Leukemia.* 2015;29:1721-1729.
12. Rosinol L, Oriol A, Rios R, et al. Bortezomib, lenalidomide, and dexamethasone as induction therapy prior to autologous transplant in multiple myeloma. *Blood.* 2019;134:1337-1345.
13. Voorhees PM, Kaufman JL, Laubach JP, et al. Daratumumab, lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone for transplant-eligible newly diagnosed multiple myeloma: the GRIFFIN trial. *Blood.* 2020;136:936-945.
14. Joseph NS, Kaufman JL, Dhodapkar MV, et al. Long-term follow-up results of lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone induction therapy and risk-adapted maintenance approach in newly diagnosed multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 2020;38:1928-1937.
15. Rosinol L, Hebraud B, Oriol A, et al. Integrated analysis of bortezomib-lenalidomide-dexamethasone vs bortezomib-thalidomide-dexamethasone in transplant-eligible newly

- diagnosed myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2019;19(suppl):E1-E2.
16. Moreau P, Attal M, Hulin C, et al. Bortezomib, thalidomide, and dexamethasone with or without daratumumab before and after autologous stem-cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma (CASSIOPEIA): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet.* 2019;394:29-38.
  17. Moreau P, Attal M, Hulin C, et al. Phase 3 randomized study of daratumumab + bortezomib/thalidomide/dexamethasone (D-VTd) vs VTd in transplant-eligible newly diagnosed multiple myeloma: CASSIOPEIA Part 1 results. *J Clin Oncol.* 2019;37(suppl 15):8003.
  18. Gay F, Cerrato C, Petrucci M, et al. Efficacy of carfilzomib lenalidomide dexamethasone (KRd) with or without transplantation in newly diagnosed myeloma according to risk status: results from the FORTE trial. *J Clin Oncol.* 2019;37(suppl 15):8002.
  19. Stadtmauer EA, Pasquini MC, Blackwell B, et al. Autologous transplantation, consolidation, and maintenance therapy in multiple myeloma: results of the BMT CTN 0702 trial. *J Clin Oncol.* 2019;37:589-597.
  20. Hari P, Pasquini M, Stadtmauer E, et al. Long-term follow-up of BMT CTN 0702 (STAMINA) of postautologous hematopoietic cell transplantation (autoHCT) strategies in the upfront treatment of multiple myeloma (MM). *J Clin Oncol.* 2020;38(suppl 15):8506.
  21. Giralt S, Costa LJ, Maloney D, et al. Tandem autologous-autologous versus autologous-allogeneic hematopoietic stem cell transplant for patients with multiple myeloma: long-term follow-up results from the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network 0102 Trial. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26:798-804.
  22. Attal M, Lauwers-Cances V, Marit G, et al. Lenalidomide maintenance after stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2012;366:1782-1791.
  23. McCarthy PL, Owzar K, Hofmeister CC, et al. Lenalidomide after stem cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2012;366: 1770-1781.
  24. McCarthy PL, Holstein SA, Petrucci MT, et al. Lenalidomide maintenance after autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: a meta-analysis. *J Clin Oncol.* 2017;35: 3279-3289.
  25. Jackson GH, Davies FE, Pawlyn C, et al. Lenalidomide maintenance versus observation for patients with newly diagnosed multiple myeloma (Myeloma XI): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2019;20:57-73.
  26. Goldschmidt H, Lokhorst HM, Mai EK, et al. Bortezomib before and after high-dose therapy in myeloma: long-term results from the phase III HOVON-65/GMMG-HD4 trial. *Leukemia.* 2018;32:383-390.
  27. Dimopoulos MA, Gay F, Schjesvold F, et al. Oral ixazomib maintenance following autologous stem cell transplantation (TOURMALINE-MM3): a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet.* 2019;393:253-264.
  39. San Miguel JF, Schlag R, Khuageva NK, et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2008;359:906-917.
  28. Benboubker L, Dimopoulos MA, Dispenzieri A, et al. Lenalidomide and dexamethasone in transplant-ineligible patients with myeloma. *N Engl J Med.* 2014;371:906-917.
  29. Durie BGM, Hoering A, Abidi MH, et al. Bortezomib with lenalidomide and dexamethasone versus lenalidomide and dexamethasone alone in patients with newly diagnosed myeloma without intent for immediate autologous stem-cell transplant (SWOG S0777): a randomised, open label, phase 3 trial. *Lancet.* 2017;389:519-527.
  30. Kumar S, Jacobus S, Cohen A, et al. Carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone (KRd) versus bortezomib, lenalidomide, and dexamethasone (VRd) for initial therapy of newly diagnosed multiple myeloma (NDMM): results of ENDURANCE (E1A11) phase III trial. *J Clin Oncol.* 2020;38(suppl18). abstr LBA3.
  31. Mateos MV, Dimopoulos MA, Cavo M, et al. Daratumumab plus bortezomib, melphalan, and prednisone for untreated myeloma. *N Engl J Med.* 2018;378:518-528.
  44. Mateos MV, Cavo M, Blade J, et al. Overall survival with daratumumab, bortezomib, melphalan, and prednisone in newly diagnosed multiple myeloma (ALCYONE): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet.* 2020;395:132-141.
  32. Facon T, Kumar S, Plesner T, et al. Daratumumab plus lenalidomide and dexamethasone for untreated myeloma. *N Engl J Med.* 2019;380:2104- 2115.
  33. Palumbo A, Hajek R, Delforge M, et al. Continuous lenalidomide treatment for newly diagnosed multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2012;366:1759-1769.
  34. Dimopoulos M, Spicka I, Quach H, et al. Ixazomib as postinduction maintenance for patients with newly diagnosed multiple myeloma not undergoing autologous stem cell transplantation: The phase III TOURMALINE-MM4 trial. *J Clin Oncol.* 2020;38(34):4030-4041.
  35. Cook G, Ashcroft AJ, Cairns DA, et al. The effect of salvage autologous stem-cell transplantation on overall survival in patients with relapsed multiple myeloma (final results from BSBMT/UKMF Myeloma X Relapse [Intensive]): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Haematol.* 2016;3:e340-351.
  36. Goldschmidt H, Baertsch MA, Schlenzka J, et al. Salvage autologous transplant and lenalidomide maintenance vs. lenalidomide/ dexamethasone for relapsed multiple myeloma: the randomized GMMG phase III trial ReLapsE. *Leukemia.* 2020. In press.
  37. Giralt S, Garderet L, Durie B, et al. American Society of Blood and Marrow Transplantation, European Society of Blood and Marrow Transplantation, Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network, and International Myeloma Working Group consensus conference on salvage hematopoietic cell transplantation in patients with relapsed multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;21:2039-2051.
  38. Miller KC, Gertz MA, Buadi FK, et al. The impact of re-induction prior to salvage autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.* 2019;54:2039-2050.
  39. Stewart AK, Rajkumar SV, Dimopoulos MA, et al. Carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2015;372:142-152.
  40. Dimopoulos MA, Oriol A, Nahi H, et al. Daratumumab, lenalidomide, and dexamethasone for multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2016;375: 1319-1331.
  41. Moreau P, Masszi T, Grzasko N, et al. Oral ixazomib, lenalidomide, and dexamethasone for multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2016;374:1621- 1634.
  42. Siegel DS, Dimopoulos MA, Ludwig H, et al. Improvement in overall survival with carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone in patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 2018;36:728-734.
  43. Harousseau JL, Dimopoulos MA, Wang M, et al. Better quality of response to lenalidomide plus dexamethasone is associated with improved clinical outcomes in patients with

- relapsed or refractory multiple myeloma. *Haematologica*. 2010;95:1738-1744.
44. Dimopoulos MA, Goldschmidt H, Niesvizky R, et al. Carfilzomib or bortezomib in relapsed or refractory multiple myeloma (ENDEAVOR): an interim overall survival analysis of an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18:1327-1337.
  45. Palumbo A, Chanan-Khan A, Weisel K, et al. Daratumumab, bortezomib, and dexamethasone for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2016;375:754-766.
  46. Richardson PG, Oriol A, Beksac M, et al. Pomalidomide, bortezomib, and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma previously treated with lenalidomide (OPTIMISM): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2019;20:781-794.
  47. Usmani S, Quach H, Mateos M-V, et al. Carfilzomib, dexamethasone, and daratumumab versus carfilzomib and dexamethasone for the treatment of patients with relapsed or refractory multiple myeloma (RRMM): Primary analysis results from the randomized, open-label, phase 3 study Candor (NCT03158688). *Blood*. 2019;134. LBA-6.
  48. Moreau P, Dimopoulos M, Mikhael J, et al. Isatuximab plus carfilzomib and dexamethasone vs carfilzomib and dexamethasone in relapsed/ refractory multiple myeloma (IKEMA): interim analysis of a phase 3, randomized, open-label study. Presented at: The European Hematology Association 25th Annual Congress; June 11-21, 2020: Virtual Congress. Abstract LBA2603.
  49. Gavriatopoulou M, Kastiris E, Ntanasis-Stathopoulos I, et al. The addition of IMiDs for patients with daratumumab-refractory multiple myeloma can overcome refractoriness to both agents. *Blood*. 2018;131:464-467.
  50. Nooka AK, Joseph NS, Kaufman JL, et al. Clinical efficacy of daratumumab, pomalidomide, and dexamethasone in patients with relapsed or refractory myeloma: utility of re-treatment with daratumumab among refractory patients. *Cancer*. 2019;125:2991-3000.
  51. Dimopoulos MA, Richardson PG, Moreau P, Anderson KC. Current treatment landscape for relapsed and/or refractory multiple myeloma. *Nat Rev Clin Oncol*. 2015;12:42-54.
  52. Gandhi UH, Cornell RF, Lakshman A, et al. Outcomes of patients with multiple myeloma refractory to CD38-targeted monoclonal antibody therapy. *Leukemia*. 2019;33:2266-2275.
  53. Attal M, Richardson PG, Rajkumar SV, et al. Isatuximab plus pomalidomide and low-dose dexamethasone versus pomalidomide and low-dose dexamethasone in patients with relapsed and refractory multiple myeloma (ICARIA-MM): a randomised, multicentre, open label, phase 3 study. *Lancet*. 2019;394:2096-210
  54. Chari A, Suvannasankha A, Fay JW, et al. Daratumumab plus pomalidomide and dexamethasone in relapsed and/or refractory multiple myeloma. *Blood*. 2017;130:974-981.
  55. Rodriguez-Otero P, Ailawadhi S, Arnulf B, Patel K, et al. Ide-cel or Standard Regimens in Relapsed and Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2023, 388(11):1002-1014.
  56. San-Miguel J, Dhakal B, Yong K, Spencer A, et al. Ciltacel or Standard Care in Lenalidomide-Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2023, 389(4):335-347.
  57. Moreau P, Garfall AL, van de Donk NWCJ, Nahi H, et al. Teclistamab in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2022, 387(6):495-505.
  58. Lesokhin AM, Tomasson MH, Arnulf B, Bahlis NJ, et al. Elranatamab in relapsed or refractory multiple myeloma: phase 2 MagnetisMM-3 trial results. *Nat Med*. 2023, 2259-2267
  59. Chari A, Minnema MC, Berdeja JG, Oriol A, et al. Talquetamab, a T-Cell-Redirecting GPRC5D Bispecific Antibody for Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2022 Dec 15;387(24):2232-2244
  60. Lonial S, Lee HC, Badros A, Trudel S, Nooka AK, et al. Belantamab mafodotin for relapsed or refractory multiple myeloma (DREAMM-2): a two-arm, randomised, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2020 21(2):207-221
  61. Grosicki S, Simonova M, Spicka I, Pour L, et al. Once-per-week selinexor, bortezomib, and dexamethasone versus twice-per-week bortezomib and dexamethasone in patients with multiple myeloma (BOSTON): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2020, 396(10262):1563-1573
  62. Kumar SK, Harrison SJ, Cavo M, de la Rubia J, et al. Venetoclax or placebo in combination with bortezomib and dexamethasone in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (BELLINI): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2020, 21(12):1630-1642.



## Liječenje koštane bolesti u multiplom mijelomu

Martina Bogeljić Patekar<sup>1</sup>, Slobodanka Ostojić Kolonić<sup>1,3</sup>, Delfa Radić-Krišto<sup>1,3,4</sup>, Sandra Bašić Kinda<sup>2</sup>, Inga Mandac Smoljanović<sup>1,3</sup>

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

<sup>2</sup> Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Zagreb

<sup>3</sup> Medicinski fakultet Zagreb, Sveučilište u Zagrebu

<sup>4</sup> Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

### Uvod

Multipli mijelom (MM) je hematološka zloćudna bolest koju karakterizira abnormalna proliferacija plazma stanica u koštanoj srži i obično je povezan s pojačanom boli u kostima i događajima povezanim s koštanim sustavom kao što su patološki prijelomi i/ili kompresija leđne moždine [1]. Medijan dobi pri dijagnozi je 69 godina [2]. Incidencija MM u Europi je 4,5-6/100000 slučajeva godišnje [3]. Ukupno 5-godišnje preživljenje je 61,1% [2]. MM se prezentira s koštanom bolesti u oko 80% slučajeva, anemijom u 60%, hiperkalcijemijom u 30% i zahvaćenošću bubrega u oko 20% bolesnika [4,5,6]. Mijelomska bolest kostiju rezultira promjenama u mikrokruženju koštane srži što se očituje povećanom osteoklastičnom aktivnošću i/ili smanjenom osteoblastičnom aktivnošću, što negativno utječe na kvalitetu života. Osteolitička bolest kostiju je obilježje koštane bolesti u MM [7]. Oko 50-60% pacijenata s MM-om razvije prijelom kosti u nekom trenutku tijekom liječenja bolesti [6,8]. Liječenje koštane bolesti u MM uključuje koštane modificirajuće čimbenike, a to su bisfosfonati ili denosumab. Ovi lijekovi ne potiču stvaranje nove kosti niti popravljaju postojeća oštećenja kostiju, oni su anti-resorptivna terapija i mogu smanjiti bol u kostima i rizik od patoloških prijeloma. Koštana bolest je i dalje glavni uzrok morbiditeta, a može se najbolje otkriti korištenjem niskodoznog CTa cijelog tijela (LD-CT), PET/CTa ili magnetske rezonance (MR) [9]. Liječenje i prevenciju koštane bolesti u MM treba započeti rano, odmah pri dijagnozi i pri započinjanju sistemskog liječenja MM te je upotreba ovih lijekova neovisna o prisutnosti litičkih lezija u vrijeme dijagnoze [3,10-12].

### Patofiziologija koštane bolesti u MM

Homeostaza skeleta je složen i multifaktorijski proces interakcije između koštanog matriksa, osteoklasta, osteoblasta, osteocita i imunološkog sustava [13-15]. Svaka neravnoteža između ovih faktora može dovesti do narušene koštane homeostaze.

Osteoklasti i osteoblasti potječu iz različitih staničnih linija. Osteoklasti nastaju iz mononuklearnih stanica iz linije monocita i makrofaga [13,14], a diferencijaciju osteoklasta regulira receptorski aktivator nuklearnog faktora kapa-B (RANK), njegov ligand (RANK-L) i RANK-L receptor za osteoprotegerin [15,16]. Osteoblasti potječu od mezenhimalnih stanica procesom osteoblastogeneze [13,16]. U normalnim okolnostima, remodeliranje kosti je dinamički uravnoteženo između resorpcije kosti osteoklastima i stvaranjem nove kosti osteoblastima [17,18].

### Koštani modificirajući čimbenici

#### Bisfosfonati

Bisfosfonati su pirofosfatni analozi s dva fosfata i središnjim ugljikovim atomom koji se vežu za hidroksiapatit, glavni mineralni sastojak kosti i time inhibiraju osteoklastičnu aktivnost [19]. Osteoklasti apsorbiraju bisfosfonate, uzrokujući inhibiciju intracelularne pirofosfat sintetaze koja oštećuje osteoklastičnu aktivnost zbog čega je naknadno razaranje kosti smanjeno [20]. Tradicionalno bisfosfonati, zoledronatna kiselina i pamidronat, su zlatni standard za koštanu bolest povezanu s MM. Prednost se daje zoledronatnoj kiselini zbog svoje superiornosti u reduciranju događaja povezanih s koštanim sustavom i u poboljšanju preživljenja, osobito u bolesnika s novootkrivenim MM. Myeloma IX, faza III ispitivanja, pokazala je poboljšano preživljenje bez progresije bolesti (PFS) (HR=0,89; p=0,02) i ukupno preživljenje (OS) (HR=0,86; p=0,01) sa zoledronatom u usporedbi s klodronatom [21]. Produženje primjene zoledronata od 2 do 4 godine nije rezultiralo dužim ukupnim preživljenjem u drugoj studiji koja je uključila 170 pacijenata s novodijagnosticiranim MM [22].

#### Denosumab

Denosumab je humano monoklonsko IgG2 antitijelo usmjereno na RANK-ligand (engl. Receptor Activator of Nuclear factor – kappa B) za koji se veže visokim afinitetom i specifičnošću, sprječava-

jući aktivaciju njegovog receptora RANK-a na površini prekursora osteoklasta i na osteoklastima [23]. Sprječavanje RANKL/RANK interakcije inhibira stvaranje osteoklasta, njihovu funkciju i preživljavanje te stoga smanjuju resorpciju kosti u kortikalnoj i trabekularnoj kosti. Denosumab je bolji od zoledronata u bolesnika s MM i bubrežnom insuficijencijom (klirens kreatinina niži od 30 ml/min). Denosumab je odobren za primjenu u MM u 2018. na temelju dvostruko slijepog, randomiziranog kliničkog ispitivanja faze III. Ovo ispitivanje je pokazalo da denosumab nije inferioran u odnosu na zoledronatnu kiselinu u odnosu na vrijeme do prvog koštanog događaja (omjer rizika 0,98; 95%CI=0,85–1,14;

p neinferiornost =0,010) [24]. Denosumab je imao povoljniji ishod za PFS nego zoledronatna kiselina [25]. Podaci iz literature o osteoporozi pokazali su da nakon prekida primjene denosumaba slijedi “rebound” osteoklastogeneze 6-12 mjeseci nakon prekida, s brzim smanjenjem mineralne gustoće kostiju i povećanim rizikom od prijeloma kralježaka [26]. Ekstrapolacijom dokaza iz studije o osteoporozi, predloženo je da se treba primijeniti jedna doza intravenoznog bisfosfonata (npr. zoledronata) najmanje 6 mjeseci nakon posljednje doze denosumaba kao doza za sprječavanje mogućeg povratnog učinka ili primjena denosumaba svakih 6 mjeseci također se može uzeti u obzir [10].

**Tablica 1. Izbor, primjena i doziranje koštanih modificirajućih čimbenika**

Lijek	Klirens kreatinina (CrCl) (ml/min)	Doza	Učestalost	Vrijeme infuzije
*Zoledronatna kiselina IV	> 60 50-60 40-49 30-39 < 30	4 mg 3,5 mg 3,3 mg 3,0 mg Nije preporučeno	Svaka 3-4 tjedna	U 100 ml 0,9% NaCl/ najmanje 15 min  Kod nižeg CrCl može se produžiti vrijeme trajanja infuzije 30-60 min
Dinatrijev pamidronat IV	> 60  30-60  < 30	90 mg  Nije potrebna prilagodba doze **30 mg  Nije preporučeno	Svaka 3-4 tjedna	U 250 ml 0,9% NaCl/ 2 h – 4 h  U 250 ml 0,9% NaCl/4 h – potrebno je produljeno vrijeme infuzije  Samo u slučajevima po život opasne hiperkalcijemije gdje korist > rizika
Denosumab SC	Nije potrebna prilagodba doze	120 mg	Svaka 4 tjedna	

\* Zoledronatna kiselina je prvi i preferirani izbor bisfosfonata u Hrvatskoj

\*\*Pokazalo se da pamidronat od 30 mg nije inferioran standardnoj dozi od 90 mg pamidronata [27]

### Nuspojave koštanih modificirajućih čimbenika Oštećenje funkcije bubrega

Prije svake primjene bisfosfonata treba provjeriti serumski kreatinin i izračunati klirens kreatinina (CrCl). Bolesnici s blagim do umjerenim oštećenjem bubrega mogu zahtijevati manje doze lijekova i produženo vrijeme primjene infuzije. Potreban je veliki oprez u primjeni bisfosfonata u bolesnika s umjerenim do teškim zatajenjem bubrega. Bisfosfonati se ne preporučuju u teškoj bubrežnoj insuficijenciji (CrCl < 30 ml/min) [10]. Također ako kreatinin u serumu značajno poraste u odnosu na početnu vrijednost, potrebno je razmotriti privremeni prekid terapije bisfosfonatima dok se serumski kreatinin ne vrati unutar 10% od početne vrijednosti [11]. Denosumab bi mogao biti bolja opcija od zoledronatne kiseline u bolesnika s MM i bubrežnom insuficijen-

cijom. Denosumab se može primijeniti i u bolesnika koji imaju CrCl niži od 30 ml/min [10].

### Hipokalcijemija

Kalcij u serumu treba redovito pratiti, a razine vitamina D u serumu treba povremeno procjenjivati (najmanje 1x godišnje). Hipokalcijemija je nuspojava svih koštanih modificirajućih čimbenika [28]. Hipokalcijemija se može pojaviti kao perioralna parestezija, karpopedalni spazam, produljenje QT intervala, letargija i trnci. Sukladno postojećim preporukama, kod pacijenata na bisfosfonatima i denosumabu, trebala bi se provoditi svakodnevna suplementacija kalcijem i vitaminom D, naravno nakon normalizacije koncentracije kalcija u serumu u slučaju hiperkalcijemije pri dijagnozi [3,10,11,29].

### **Osteonekroza čeljusti**

Osteonekroza čeljusti (ONČ) je klinička dijagnoza i definira se kao izložena kost u maksilofacijalnom području koja ne uspijeva zacijeliti unutar 8 tjedana kod bolesnika koji trenutno prima i/ili je prethodno primao koštane modificirajuće čimbenike, ali nije bio izložen radioterapiji glave i vrata [30]. Među pacijentima s MM incidencija ONČ kod intravenske primjene bisfosfonata je 3,8 na 100 pacijenata [31]. Čini se da je rizik od ONČ veći s potentnijim lijekovima (zoledronatna kiselina je povezana s više slučajeva ONČ od pamidronata), a slučajevi ONČ na oralnim bisfosfonatima, uključujući klodronat, izuzetno su rijetki. Zoledronatna kiselina bila je povezana s 9,5 puta većim rizikom od razvoja ONČ nego pamidronat ( $p=0,042$ ) [32]. Svi pacijenti trebaju imati sveobuhvatan preventivni stomatološki pregled prije početka terapije bisfosfonatima. Aktivne oralne infekcije treba liječiti, a mjesta s visokim rizikom od infekcije treba eliminirati [11]. Bisfosfonate treba privremeno pauzirati prije i poslije ekstrakcije ili invazivnih oralnih postupka (npr. vađenje zuba, dentalni implantati, operacija u usnoj šupljini). Nastavak primjene lijeka koji ciljano djeluje na kosti u slučaju ONČ mora biti individualiziran i u omjeru rizika i koristi te uzeti u obzir i težinu koštane bolesti u MM. Ispune i čišćenje zuba ne zahtijevaju prekid terapije bisfosfonatima. Liječenje ONČ može biti konzervativno ili kirurško ovisno o težini i veličini lezije, lijekovima i komorbiditetima bolesnika. IMWG predlažu privremeni prekid bisfosfonata 90 dana prije i nakon invazivnih stomatoloških zahvata. Profilaktička upotreba antibiotika prilikom invazivnih stomatoloških zahvata smanjuje mogućnost nastanka ONČ [33].

### **Atipični prijelomi femura**

Uz terapiju bisfosfonatima zabilježeni su i atipični subtrohanterni prijelomi i prijelomi dijafize bedrene kosti, prvenstveno u bolesnika koji su dugotrajno uzimali terapiju zbog osteoporoze [34]. Bisfosfonati uzrokuju mikroostećenja kostiju smanjujući heterogenost koštanog matriksa što dovodi do atipičnih prijeloma bedrene kosti [35]. Prijelomi nastaju nakon minimalne traume ili bez ikakve traume, a na radiološkim slikama često su prisutni znakovi stres prijeloma tjednima ili mjesecima prije nego što nastane potpuni prijelom bedrene kosti. Budući da su prijelomi često obostrani, u bolesnika liječenih bisfosfonatima s prijelomom dijafize bedrene kosti potrebno je pregledati bedrenu kost i na suprotnoj strani.

### **Trenutne preporuke za primjenu koštanih modificirajućih čimbenika**

Kao standard liječenja koštane bolesti u MM treba koristiti bisfosfonate ili denosumab. Odluka bi se trebala temeljiti na indikaciji, preferencijama pacijenta, profilu toksičnosti, jednostavnosti primjene i trošku liječenja. Smjernice međunarodnih organizacija, uključujući Američko društvo za kliničku onkologiju (ASCO) [11], Europska mijelomska mreža (EMN) [29], Međunarodna radna skupina za mijelom (IMWG) [10], EHA-ESMO [3] i NCCN [12], preporučuju početak terapije koštanim modificirajućim čimbenicima kod svih pacijenata s MM koji se liječe sustavnom kemoterapijom, neovisno o prisutnosti litičkih lezija odnosno koštane bolesti u vrijeme dijagnoze MM. Isto tako, smjernice se slažu da se liječenje ovim lijekovima treba ponovno nastaviti kod relapsa bolesti. No, trenutno nema jasnih dokaza koji bi usmjeravali optimalno trajanje terapije koštanim modificirajućim čimbenicima.

ASCO-ov [11] izbor bisfosfonata je zoledronatna kiselina ili pamidronat svaka 3-4 tjedna. Stručni panel preporučuje smanjenje doze zoledronatne kiseline i pamidronata u slučajevima već postojeće bolesti bubrega i izbjegavati primjenu zoledronatne kiseline u slučajevima teške bubrežne bolesti ( $\text{CrCl} < 30 \text{ ml/min}$ ). Denosumab nije inferioran u odnosu na zoledronatnu kiselinu i preferira se u slučajevima bubrežne bolesti. Liječenje se preporuča provoditi do 2 godine uz daljnju individualiziranu liječničku procjenu. U bolesnika koji su na terapiji održavanja, liječnik može razmotriti 3-mjesečni interval primjene bisfosfonata. Denosumab se ne smije naglo prekinuti obzirom na njegov reverzibilni mehanizam djelovanja.

EHA-ESMO smjernice [3] preporučuju za bolesnike koji su postigli kompletan odgovor (CR) ili vrlo dobar parcijalni odgovor (VGPR) 12-24 mjeseca terapije zoledronatnom kiselinom jednom mjesečno. U slučaju relapsa, zoledronatnu kiselinu treba ponovno započeti. Denosumab treba davati kontinuirano, a prekid uzimanja denosumaba mora biti popraćen dozom zoledronatne kiseline 6-9 mjeseci nakon zadnje doze denosumaba radi prevencije bilo kakvog „povratnog fenomena“.

IMWG [10] daje prednost zoledronatnoj kiselini zbog njezinog utjecaja na ukupno preživljenje [21]. Zoledronatnu kiselinu treba primjenjivati jednom mjesečno tijekom najmanje 12 mjeseci. Ako se nakon 12 mjeseci postigne VGPR ili bolji odgovor, liječnik može razmotriti smanjenje učestalosti doziranja na svaka 3 mjeseca ili, na svakih 6 mjeseci ili

godišnje ili čak i prekid primjene zoledronatne kiseline. Ako nakon 12 mjeseci nije postignut VGPR, zoledronatna kiselina se mora nastaviti mjesečno dok se ne postigne VGPR ili bolji odgovor. Nakon toga, smanjenje učestalost doziranja ili prekid uzimanja zoledronatne kiseline je prihvatljiv. Denosumab je izbor u bolesnika koji imaju CrCl niži od 30 ml/min. Denosumab treba davati kontinuirano dok se ne javi neprihvatljiva toksičnost. Smanjenje doziranja ili prekid denosumaba može se razmatrati nakon 24 mjeseca liječenja i ako pacijent postigne VGPR ili bolji odgovor uz sve preporuke za sprječavanje „povratnog fenomena“ uz denosumab.

Prema NCCN smjernicama [12] pamidronat i zoledronatna kiselina imaju jednaku indikaciju, a denosumab je poželjan u slučaju bubrežne bolesti i MM. Trajanje liječenja je do 2 godine ili duže prema odluci liječnika temeljenoj na kliničkoj prosudbi. Učestalost primjene može se prilagoditi sa svakih 1 mjesec na 3 mjeseca na temelju odgovora na sistemsku terapiju. Denosumab se ne smije naglo prekinuti obzirom na njegov reverzibilni mehanizam djelovanja. Bolesnici koji primaju denosumab za koštanu bolest i koji prekinu terapiju, trebaju dobiti denosumab svakih 6 mjeseci ili jednu dozu bisfosfonata za smanjenje rizika od „povratnog fenomena“ odnosno povratne osteoporoze.

Dakle, većina smjernica preporuča trajanje liječenja s bisfosfonatima do 2 godine i nastavak liječenja u slučaju relapsa bolesti (ASCO smjernice), za razliku od 1 godine (IMWG smjernice) ako pacijent postigne VGPR ili bolji odgovor, jer se s duljim trajanjem liječenja povećava i učestalost nuspojava, uključujući renalnu toksičnost i ONČ [3,10-12,29].

Smjernice se slažu da je kod pacijenta koji primaju bisfosfonate i denosumab potrebna suplementacija kalcijem i D vitaminom [3,10,11,29]. Dodaci kalcija i vitamina D trebali bi se davati svim bolesnicima koji primaju bisfosfonate, ali tek nakon normalizacije koncentracije kalcija u serumu u slučaju hiperkalcijemije. Preporuča se 600 mg kalcija/dan i 400 IU vitamina D3 dnevno uz oprez kod bubrežne bolesti [10,29].

Klirens kreatinina, serumski kalcij, fosfate, magnezij, vitamin D i albumin u mokraći (u bolesnika koji primaju pamidronat) treba pratiti na mjesečnoj razini te prilagođavati dozu lijekova [3,10-12,29].

Oralno zdravlje treba procijeniti na početku i tijekom liječenja koštanim modificirajućim čimbenicima. Također, potrebno je izbjeđavati invazivne stomatološke zahvate, a ako su nužni treba prekinuti bisfosfonate 8-12 tjedana i denosumab najmanje 30

dana prije zahvata i poslije nastaviti uz pažljivu procjenu za svakog individualnog pacijenta tek kod potpunog zacjeljivanja tkiva [3,10-12,29]. Prije invazivnih stomatoloških zahvata svakako treba razmotriti antibiotsku profilaksu kao što je amoksicilin–klavulonat od 1 dana prije do 3 dana nakon zahvata [10]. Ispune i čišćenja zubnog kamena ne zahtijevaju prekid terapije modificirajućim koštanim čimbenicima. U asimptomatskom ili šuljajućem multiplom mijelomu (SMM) ne preporuča se terapija bisfosfonatima ili denosumabom, osim u slučaju osteopenije/osteoporoze u SMM-u kada se koštana bolest treba liječiti u skladu sa smjernicama za osteoporoze [11,29].

### Utjecaj antimijelomske terapije na koštani metabolizam u multiplom mijelomu

Inhibitori proteasoma i imunomodulatori su značajno promijenili prognozu pacijenata s MM, ne samo utječući na patofiziološke mehanizme samog poremećaja, nego i na koštani metabolizam. Bortezomib smanjuje resorpciju kosti, a pojačava njeno stvaranje djelujući preko ubikvitin-proteasoma, koštanih morfogenetskih proteina i ostalih signalnih puteva koji reguliraju stvaranje kostiju. Inhibira diferencijaciju osteoklasta, smanjuje njihov resorptivni potencijal, smanjuje ukupan broj funkcionalnih osteoklasta i sprječava smrt osteocita. Karfilzomib ima antiresorptivni i koštani anabolički učinak, sličan bortezomibu, ali je ipak potentniji. Iksazomib također stimulira osteogenu diferencijaciju mezenhimalnih stanica, pojačava funkciju osteoblasta i mineralizaciju koštanog matriksa. Po svom učinku na sprječavanje mijelomom povezanog gubitka kosti, sličan je bortezomibu [36,37]. Imunomodulatori izravno inhibiraju ranu diferencijaciju osteoklasta. Uočena je pojačana aktivnost biljega osteogene aktivnosti uz lenalidomid u dozi od 25 mg u kombinaciji s inhibitorom proteasoma [38].

### Zaključak

Koštani modificirajući čimbenici, bisfosfonati i desnosumab, ključni su u liječenju koštane bolesti i koštanih komplikacija kod pacijenata s MM i sastavni su dio sistemskog liječenja u MM. Njihova primjena može značajno smanjiti morbiditet povezan s koštanom bolesti i poboljšati kvalitetu života bolesnika s MM. Međutim, dugotrajno liječenje zahtijeva pažljiv nadzor zbog mogućih nuspojava, uključujući osteonekrozu čeljusti i promjene u bubrežnoj funkciji te se zbog toga danas primijenjuje vremenski ograničeno liječenje koštanim modificirajućim čimbenicima, ovisno o odgovoru posti-

gnutom na sistemsku terapiju. Integracija koštanih modificirajućih čimbenika u sveobuhvatan plan liječenja MM je nužna i od kritične je važnosti za optimalnu skrb ovih pacijenata, ali svakako se treba voditi individualiziranim pristupom prema svakom bolesniku oboljelom od MM.

#### Literatura:

1. www.uptodate.com
2. National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology and End Results Program [Internet]. Cancer Stat Facts: Myeloma [pristupljeno 08.10.2024.] Dostupno na: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/mulmy.html>
3. Dimopoulos MA, Moreau P, Terpos E, i sur. Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol.* 2021;32(3):309-22. Erratum in: *Ann Oncol.* 2022;33(1):117.
4. Marino S, Petrusca DN, Roodman GD. Therapeutic targets in myeloma bone disease. *Br J Pharmacol.* 2021;178(9):1907-22.
5. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, i sur. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc.* 2003;78(1):21-33.
6. Moreau P, Attal M, Caillot D, i sur. Prospective evaluation of magnetic resonance imaging and [(18)F] Fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography at diagnosis and before maintenance therapy in symptomatic patients with multiple myeloma included in the IFM/DFCI 2009 trial: results of the IMAJEM study. *J Clin Oncol.* 2017;35(25):2911-8.
7. Edwards CM, Zhuang J, Mundy GR. The pathogenesis of the bone disease of multiple myeloma. *Bone* 2008;42(6):1007-13.
8. Terpos E, Berenson J, Cook RJ, i sur. Prognostic variables for survival and skeletal complications in patients with multiple myeloma osteolytic bone disease. *Leukemia* 2010;24(5):1043-9.
9. Hillengass J, Usmani S, Rajkumar SV, i sur. International myeloma working group consensus recommendations on imaging in monoclonal plasma cell disorders. *Lancet Oncol.* 2019;20(6):302-12.
10. Terpos E, Zamagni E, Lentzsch S, i sur. Treatment of multiple myeloma-related bone disease: recommendations from the Bone Working Group of the International Myeloma Working Group. *Lancet Oncol.* 2021;22(3):119-30.
11. Anderson K, Ismaila N, Flynn PJ, i sur. Role of Bone-Modifying Agents in Multiple Myeloma: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol.* 2018;36(8):812-8.
12. Kumar SK, Callander NS, Adekola K, i sur. Multiple Myeloma, Version 2.2024, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2023;21(12):1281-301.
13. Lu H, Pundole X, Lee HC. The role of bone-modifying agents in myeloma bone disease. *JBMR Plus.* 2021;5(8):e10518.
14. Teitelbaum SL, Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet* 2003;4(8):638-49.
15. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys* 2008;473(2):139-46.
16. Hussain M, Khan F, Al Hadidi S. The use of bone-modifying agents in multiple myeloma. *Blood Rev.* 2023;57:100999.
17. Huang W, Yang S, Shao J, Li YP. Signaling and transcriptional regulation in osteoblast commitment and differentiation. *Front Biosci* 2007;12:3068-92.
18. Hameed A, Brady JJ, Dowling P, Clynes M, O’Gorman P. Bone disease in multiple myeloma: pathophysiology and management. *Cancer Growth Metastasis* 2014;7:33-42.
19. Drake MT, Clarke BL, Khosla S. Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice. *Mayo Clin Proc* 2008;83(9):1032-45.
20. Maruotti N, Corrado A, Neve A, Cantatore FP. Bisphosphonates: effects on osteoblast. *Eur J Clin Pharmacol* 2012;68(7):1013-8.
21. Morgan GJ, Davies FE, Gregory WM, i sur. Long-term follow-up of MRC myeloma IX trial: survival outcomes with bisphosphonate and thalidomide treatment. *Clin Cancer Res* 2013;19(21):6030-8.
22. Aviles A, Nambo MJ, Huerta-Guzman J, Cleto S, Neri N. Prolonged use of zoledronic acid (4 years) did not improve outcome in multiple myeloma patients. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2017;17:207-10.
23. Yee AJ, Raje NS. Denosumab, a RANK ligand inhibitor, for the management of bone loss in cancer patients. *Clin Interv Aging* 2012;7:331-8.
24. Raje N, Terpos E, Willenbacher W, i sur. Denosumab versus zoledronic acid in bone disease treatment of newly diagnosed multiple myeloma: an international, double-blind, double-dummy, randomised, controlled, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2018;19(3):370-81.
25. Dimopoulos MA, Kastritis E. Denosumab for myeloma bone disease: ready for prime time? *Lancet Oncol* 2018;19(3):277-8.
26. Lamy O, Stoll D, Aubry-Rozier B, Rodriguez EG. Stopping denosumab. *Curr Osteoporos Rep* 2019;17(1):8-15.
27. Gimsing P, Carlson K, Turesson I, et al. Effect of pamidronate 30 mg versus 90 mg on physical function in patients with newly diagnosed multiple myeloma (Nordic Myeloma Study Group): a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2010;11(10):973-82.
28. Kreutle V, Blum C, Meier C, i sur. Bisphosphonate induced hypocalcaemia - report of six cases and review of the literature. *Swiss Med Wkly.* 2014;144:w13979.
29. Terpos E, Kleber M, Engelhardt M, i sur. European Myeloma Network guidelines for the management of multiple myeloma-related complications. *Haematologica.* 2015;100(10):1254-66.
30. Rasmusson L, Abtahi J. Bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw: an update on pathophysiology, risk factors, and treatment. *Int J Dent.* 2014;2014:471035.
31. Wang EP, Kaban LB, Strewler GJ, Raje N, Troulis MJ. Incidence of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma and breast or prostate cancer on intravenous bisphosphonate therapy. *J Oral Maxillofac Surg* 2007;65(7):1328-31.
32. Zervas K, Verrou E, Teleioudis Z, i sur. Incidence, risk factors and management of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma: a single-centre experience in 303 patients. *Br J Haematol.* 2006;134(6):620-3.
33. Montefusco V, Gay F, Spina F, i sur. Antibiotic prophylaxis before dental procedures may reduce the incidence of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates. *Leuk Lymphoma.* 2008;49(11):2156-62.
34. Lloyd AA, Gludovatz B, Riedel C, i sur. Atypical fracture with long-term bisphosphonate therapy is associated with altered cortical composition and reduced fracture resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017;114(33):8722-7.

35. Donnelly E, Meredith DS, Nguyen JT, i sur. Reduced cortical bone compositional heterogeneity with bisphosphonate treatment in postmenopausal women with intertrochanteric and subtrochanteric fractures. *J Bone Miner Res.* 2012;27(3):672-8.
36. Zangari M, Suva LJ. The effects of proteasome inhibitors on bone remodeling in multiple myeloma. *Bone.* 2016;86:131-8.
37. Teramachi J, Miki H, Nakamura S, Hiasa M, Harada T, Abe M. Myeloma bone disease: pathogenesis and management in the era of new anti-myeloma agents. *J Bone Miner Metab.* 2023;41(3):388-403.
38. Liu Y, Li B, Chen X, Xiong H, Huang C. The effect of immunomodulatory drugs on bone metabolism of patients with multiple myeloma. *Expert Rev Hematol.* 2024;17(1-3):47-54.

## Sažetak novih Hrvatskih smjernica za liječenje akutne mijeloične leukemije – 2024. godina

Mirta Mikulić<sup>1</sup>, Pavle Rončević<sup>1</sup>, Nadira Duraković<sup>1,2</sup>, Ranka Serventi Seiwerth<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti KBC Zagreb

<sup>2</sup> Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu

Na proljetnom sastanku Krohema održanom u Trogiru u svibnju 2024. godine predstavljena je nova (druga) verzija Hrvatskih smjernica za liječenje akutne mijeloične leukemije (osim akutne promijelocitne leukemije), dok je prva bila objavljena 2020. godine. Smjernice su rezultat rada Krohemove Radne skupine za akutne leukemije i podijeljene su u tri dijela: i) liječenje bolesnika s akutnom mijeloičnom leukemijom (AML) koji su podobni za intenzivnu kemoterapiju, ii) liječenje bolesnika s AML koji nisu podobni za intenzivnu kemoterapiju, i iii) indikacije za alogeničnu transplantaciju krvotvornih matičnih (TKMS) stanica u bolesnika s AML. Također, u njih je inkorporiran i sadržaj koji obuhvaća laboratorijsku dijagnostiku AML – protočnu citometriju, molekularnu dijagnostiku i citogenetiku.

Nove se smjernice temelje na prošloj verziji smjernica, uzimajući u obzir nove klasifikacije AML-a iz 2022. godine (*World Health Organization - WHO* i *International Consensus Classification - ICC*), preporuke za liječenje *European Leukemia Net (ELN)* i *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)*, zaključke Radnog sastanka Radne skupine za akutne leukemije Krohema o molekularnoj dijagnostici AML-a te registracijske studije novih lijekova.

### Ovdje donosimo sažetak novih smjernica:

**I.** Okosnica uvodne terapije I. linije bolesnika podobnih za intenzivno liječenje jest i dalje shema „3+7“ s daunorubicinom i citarabinom, kojoj se ovisno o grupi rizika prema ELN-u te genskim i imunofenotipskim značajkama bolesti može dodati *FLT3* inhibitor (midostaurin ili quizartinib) kod *FLT3+* AML, ili u slučaju CD33+ bolesti povoljnog ili intermedijarnog rizika gemtuzumab ozogamicin. Isti lijekovi dodaju se i u konsolidacijskim ciklusima koji se temelje na srednje visokim dozama citarabina. Posebnu skupinu čine bolesnici s AML s promjenama vezanim uz mijelodisplaziju (AML-MRC) ili vezano uz prethodnu terapiju (T-AML), kod kojih se uz standardni „3+7“ u indukciji i srednje visoke doze citarabina u konsolidaciji može primijeniti i fiksna liposomalna kombinacija daunorubicina i citarabina CPX-351 ili kemoterapijske sheme koje uključuju

visoke doze citarabina, no i terapija slabijeg intenziteta kombinacijom venetoklaksa i azacitidina.

Bolesnici koji nakon intenzivne uvodne terapije više nisu sposobni za daljnje intenzivno liječenje mogu primati održavanje peroralnim ili parenteralnim azacitidinom. Održavanje je također predviđeno i nekim od *FLT3* inhibitora, kod bolesnika s *FLT3+* bolesti po završetku konsolidacije, ukoliko nisu kandidati za alogeničnu TKMS (midostaurin ili quizartinib), te nakon alogenične TKMS (midostaurin, quizartinib, sorafenib, gilteritinib).

U II. liniji liječenja koja je predviđena za bolesnike koji nisu postigli remisiju ili imaju progresivnu bolest nakon 1-2 ciklusa indukcije te bolesnika u relapsu, predviđena je terapija srednje visokim dozama citarabina s antraciklinom, kombinacije koje uključuju visoke doze citarabina i antraciklin uz dodatak kladribina ili fludarabina ± venetoklaks, te gilteritinib u monoterapiji u bolesnika s *FLT3+* bolesti. U bolesnika koji više nisu kandidati za liječenje intenzivnom kemoterapijom može se provesti liječenje kombinacijom venetoklaksa i azacitidina.

**II.** Bolesnici koji nisu kandidati za intenzivnu terapiju u prvoj liniji trebaju biti liječeni kombinacijom venetoklaksa i hipometilirajućeg agensa (HMA), tj. azacitidina. U I. liniji također dolazi u obzir kombinacija venetoklaksa i citarabina u niskim dozama. Liječenje se provodi do izostanka odgovora ili neprihvatljive toksičnosti. Međutim, ukoliko dođe do poboljšanja *performance* statusa bolesnika, oni mogu biti naknadno razmotreni za intenzivnije načine liječenja, uključujući alogeničnu TKMS. Bolesnici u progresiji mijelodisplastičnog sindroma, a nakon ranijeg liječenja s HMA mogu biti liječeni dodatkom venetoklaksa uz postojeći HMA ili uz izmjenu HMA, te venetoklaksom u kombinaciji s citarabinom u niskim dozama. U slučaju AML s IDH1 R132 mutacijom također u obzir dolazi i ivosidenib.

U II. liniji liječenja bolesnika koji u prvoj nisu primali venetoklaks u slučaju nedostatnog odgovora, primjenjuje se kombinacija venetoklaksa s lijekom koji do tada nije primjenjivan iz skupine HMA ili niskim dozama citarabina. U slučaju da na ranije liječenje nekom od kombinacija s venetoklaksom

nije bio postignut odgovor, provodi se monoterapija lijekom koji do tada nije primjenjivan, azacitidinom ili niskim dozama citarabina. Kod bolesnika s FLT3+ R/R AML lijek izbora je gilteritinib.

**III.** U donošenju odluke je li određeni bolesnik kandidat za liječenje alogeničnom TKMS potrebno je procijeniti je li alogenična TKMS optimalan pristup liječenju leukemije te je li liječenje transplantacijom moguće uzimajući u obzir ukupno zdravlje oboljelog i komorbiditete, stanje leukemije, dostupnost darivatelja i izvor transplantata. Bolesnici u prvoj kompletnoj remisiji, s povoljnim rizikom prema ELN mogu biti liječeni autolognom TKMS ukoliko u prikupljenom transplantatu nema detektiranog biljega bolesti. Bolesnici s povoljnim rizikom trebaju biti razmotreni za alogeničnu TKMS u

slučaju da nisu postigli molekularnu remisiju nakon drugog ciklusa kemoterapije ili ukoliko im za postizanje citološke remisije treba više od dva ciklusa indukcije. Bolesnici intermedijarnog rizika prema ELN u prvoj kompletnoj trebaju biti razmotreni za alogeničnu TKMS, a u slučaju da je bolesnik MRD negativan dolazi u obzir i autologna transplantacija. Bolesnici s nepovoljnim rizikom prema ELN u prvoj kompletnoj remisiji, kao i bolesnici u drugoj kompletnoj remisiji bez obzira na inicijalnu kategoriju rizika, trebaju biti razmotreni za alogeničnu TKMS. Alogenična TKMS može se iznimno razmotriti i kod određenih bolesnika koji nisu u remisiji.

Smjernice za liječenje AML su u cijelosti dostupne na mrežnim stranicama Krohema (Slika 1.).

**Slika 1. Nove Hrvatske smjernice za liječenje akutne mijeloične leukemije objavljene su na mrežnoj stranici Krohema.**



#### Literatura:

1. Arber DA, et al. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood*. 2022;140(11):1200-1228.
2. Döhner H, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood*. 2022; 140(12): 1345–1377.
3. Khoury JD, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/ Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1703-1719
4. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®): Acute Myeloid Leukemia. Version 1.2024 — February 28, 2024. <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1411>



## Ishodi liječenja AML u županijskim bolnicama Republike Hrvatske\*

David Šarčević<sup>1</sup>, Ivan Zekanović<sup>2</sup>, Martina Morić Perić<sup>2</sup>, Hrvoje Holik<sup>3</sup>, Božena Coha<sup>3</sup>, Marko Skelin<sup>4-6</sup>, Ivan Krečak<sup>5-7</sup>

<sup>1</sup>Bolnička ljekarna, Opća bolnica Zadar

<sup>2</sup>Odjel hematologije, Klinika za unutarnje bolesti, Opća bolnica Zadar, Zadar, Hrvatska

<sup>3</sup>Služba interne medicine, Opća bolnica Dr. Josip Benčević, Slavonski Brod, Hrvatska

<sup>4</sup>Odjel bolničke ljekarne, Opća bolnica Šibensko-kninske županije, Šibenik, Hrvatska

<sup>5</sup>Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

<sup>6</sup>Veleučilište u Šibeniku, Šibenik, Hrvatska

<sup>7</sup>Odjel hematologije, onkologije, alergologije i kliničke imunologije, Služba interne medicine, Opća bolnica Šibensko-kninske županije, Šibenik, Hrvatska

\* Prezentirani rezultati dio su istraživanja provedenog u svrhu izrade specijalističkog rada (David Šarčević, mag. pharm) na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu u Zagrebu.

### Uvod

Unatrag nekoliko godina kombinacija azacitidina i venetoklaksa (AZA/VEN) postala je zlatni standard liječenja bolesnika s akutnom mijeloidnom leukemijom (AML) starije životne dobi ili s komorbiditetima zbog kojih nije pogodno intenzivno kemoterapijsko liječenje i/ili alotransplantacija krvotvornim matičnim stanicama. Navedeno je temeljeno na rezultatima VIALE-A randomizirane kliničke studije faze 3 koja je pokazala bolje kompozitne kompletne odgovore (kompletne odgovore + kompletne odgovore s nepotpunim hematopoetskim oporavkom) uz kombinaciju hipometilirajućeg agensa (azacitidina-AZA) i antiapoptotskog *bcl-2* inhibitora (venetoklaksa-VEN) u odnosu na one liječene samo s AZA (66,4% vs. 28,3%) ali i bolji medijan preživljenja od 14,7 mjeseci naspram 9,6 mjeseci.<sup>1</sup> Od 2020 ova je kombinacija postala zlatni standard liječenja ovih bolesnika i u Republici Hrvatskoj (RH).

Ishodi bolesnika s AML liječenih van akademskih centara su načelno suboptimalni, a glavni razlozi su insuficijentna dijagnostika, kompleksnost u prezentaciji bolesnika i komplikacije AML, starija životna dob, fragilnost, prisutnost multiplih komorbiditeta, slabije toleriranje liječenja, neiskustvo liječnika, nedostatak opreme, kadra, financijskih sredstava i ostalih resursa.<sup>2</sup> Bez obzira, bolesnici s AML nepodobni za intenzivno kemoterapijsko liječenje se često zbrinjavaju i u županijskim bolnicama RH, a dosadašnje liječenje ovih bolesnika najčešće je uključivalo najbolju moguću suportivnu skrb (*engl. best supportive care-BSC*), monoterapiju AZA ili niske doze citarabina (*engl. low-dose cytarabine-LDAC*), dok su rijetki bolesnici primali različite kombinacije antraciklina i citarabina.

Trenutno u RH ne postoje dostupni podaci o li-

ječenju AML u županijskim bolnicama RH stoga je osnovni cilj ovog rada bio analizirati ishode ovih bolesnika.

### Bolesnici i metode

#### Dizajn

Ova retrospektivna multicentrična studija provedena je u Općoj bolnici Zadar, Općoj bolnici Šibensko-kninske županije i Općoj bolnici „Dr. Josip Benčević“ u Slavanskom Brodu u razdoblju između 2019 i 2024, a uključila je bolesnike s AML koji nisu bili prikladni za intenzivno kemoterapijsko liječenje i/ili alotransplantaciju perifernim krvotvornim matičnim stanicama. Dijagnoza AML postavljena je u prisutnosti  $\geq 20\%$  mijeloblasta u perifernoj krvi/koštanoj srži i/ili uz nalaz ekstramedularnih nakupina mijeloblasta.

Osnovni ciljevi rada bili su kompletan odgovor na liječenje i preživljenje bolesnika. Odgovor na liječenje definiran je prema kriterijima Europske mreže za leukemije (*engl. European Leukemia Network-ELN*) iz 2017.<sup>3</sup> Kompletna remisija (KR) definirana je kao  $< 5\%$  blasta u koštanoj srži, izostanak cirkulirajućih blasta i ekstramedularne bolesti uz apsolutni broj granulocita  $\geq 1000 \times 10^9/L$  i broj trombocita  $\geq 100 \times 10^9/L$ , dok je KR s inkompletnim oporavkom (KRi) definirana kao KR osim rezidualne neutropenije ( $< 1000 \times 10^9/L$ ) i/ili trombocitopenije ( $< 100 \times 10^9/L$ ) – za potrebu ovog istraživanja KR i KRi su smatrani ekvivalentima.

Demografski, klinički i laboratorijski podaci bilježeni su retrospektivno u vrijeme postavljanja dijagnoze. Komorbiditeti su prikazani sumarno pomoću Charlsonovog indeksa komorbiditeta korigiranog za dob (*engl. age-adjusted Charlson Comorbidity Index- aCCI*).<sup>4</sup>

Primjena BSC označavala je transfuzije krvnih pripravaka, antimikrobnu profilaksu, te citoredukciju tiogvaninom ili hidroksiurejom. Trajna antimikrobna profilaksa podrazumijevala je antibakterijsku, antivirusnu i antigljivičnu zaštitu. Primjena antraciklina označavala je korištenje doksorubicina, daunorubicina, mitoksantrona ili idarubicina u varijabilnim dozama, dok se LDAC primjenjivao u doza od 10-20 mg/m<sup>2</sup> kroz 7-14 dana, a monoterapija AZA u dozi od 75mg/m<sup>2</sup> kroz 5-7 dana. S obzirom na malen broj bolesnika liječenih LDAC (n=8), bolesnici s LDAC i AZA grupirani su u jednu grupu. U AZA/VEN protokolu, VEN se pridodavao AZA i koristio u dozi od 400mg dnevno, uz uobičajeno podizanje doze (100-200-400mg).<sup>1</sup>

### Statističke analize

Licencirani statistički program MedCalc Statistical Software® (Ostend, Belgija, verzija 20.023) korišten je pri svim analizama. Kategorijske varijable analizirane su hi-kvadrat testom ili Fisherovim egzaktnim testom uz korekciju prema Bonferroniju za višestruke usporedbe. Kontinuirane varijable uspoređene su Mann-Whitney U testom. Ukupno preživljenje mjereno je od vremena dijagnoze do smrti ili datuma zadnje kontrole. Preživljenje podskupina bolesnika analizirane su pomoću Kaplan-Meierove metode i uspoređene log-rank testom, dok je Coxova regresijska analiza korištena je multivarijantnim analizama preživljenja. P-vrijednosti <0.050 smatrane su statistički značajnima.

### Etička načela

Istraživanje je odobreno od Etičkih povjerenstava Opće bolnice Šibensko-kninske županije, Opće bolnice Zadar i Opće bolnice „Dr. Josip Benčević“ u Slavenskom brodu.

## Rezultati

### Karakteristike bolesnika

Ukupno je uključeno 149 bolesnika, 67 (45%) žena, s medijanom dobi od 76 godina (raspon 56-97) i medijanom aCCI od 5 (raspon 2-12), a dominirala je *de novo* AML (n=90, 60,4%). Većina bolesnika

primala je BSC (n=51, 34,2%), potom monoterapiju AZA ili LDAC (n=39, 26,2%), zatim AZA/VEN (n=35, 23,5%), a najmanje njih citarabin u kombinaciji s antraciklinima (n=24, 16,1%). Bolesnici tretirani s BSC bili su najstariji (80 vs. 72 vs. 70 vs. 70,5 godina; p<0,001), s najvišim aCCI (6 vs. 5 vs. 5 vs. 4; p<0,001) i najrjeđe su primali trajnu antimikrobnu profilaksu (58,8% vs. 85,7% vs. 89,7% vs. 95,8%; p=0,001) dok su oni liječeni protokolima koji sadrže antracikline imali najviši broj leukocita (p=0,006). Nije bilo razlike u ostalim analiziranim varijablama.

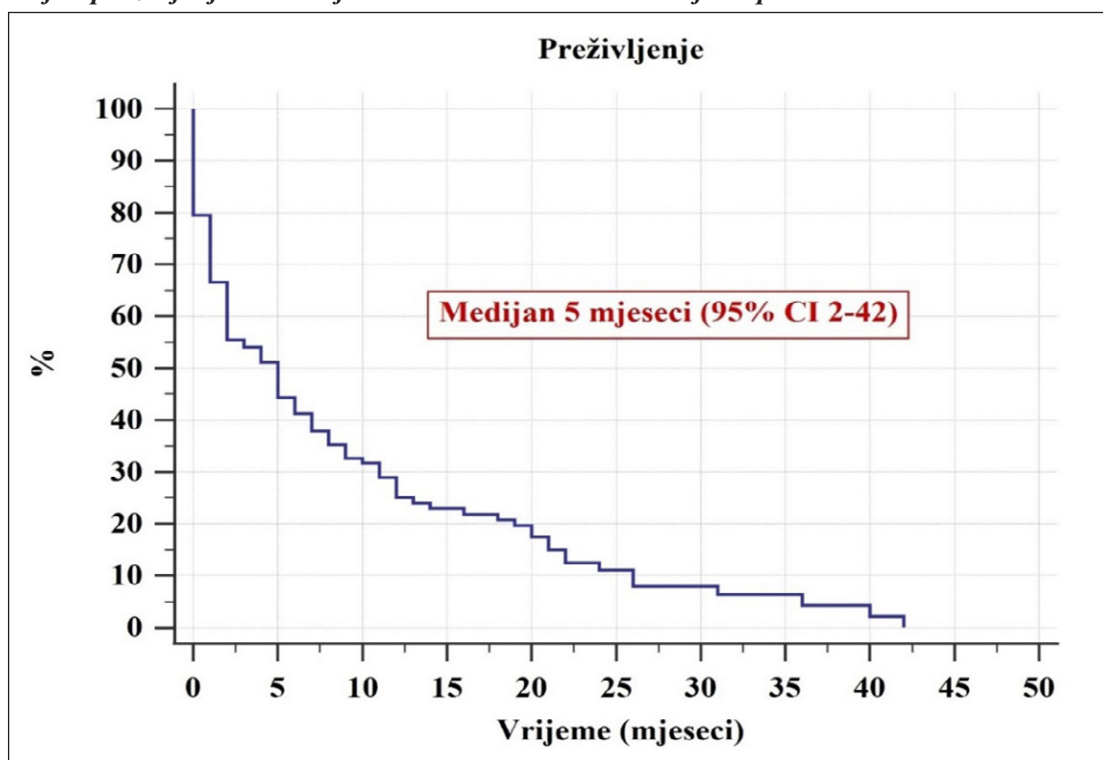
### Odgovor na liječenje

Odgovor na liječenje se mogao procijeniti u 81 bolesnika (54,3%), njih četiri s BSC, 31 s AZA/VEN, 29 s AZA/LDAC i kod 17 onih liječenih s kombinacijom antraciklina i citarabina. KR bile su najčešće u bolesnika liječenih s AZA/VEN (n=21, 67,7%), potom onih liječenih s kombinacijom antraciklina i citarabina (n=6, 35%), zatim onih liječenih s AZA/LDAC (n=9, 31,1%), dok nisu zabilježene u bolesnika uz BSC (0%; p=0,005).

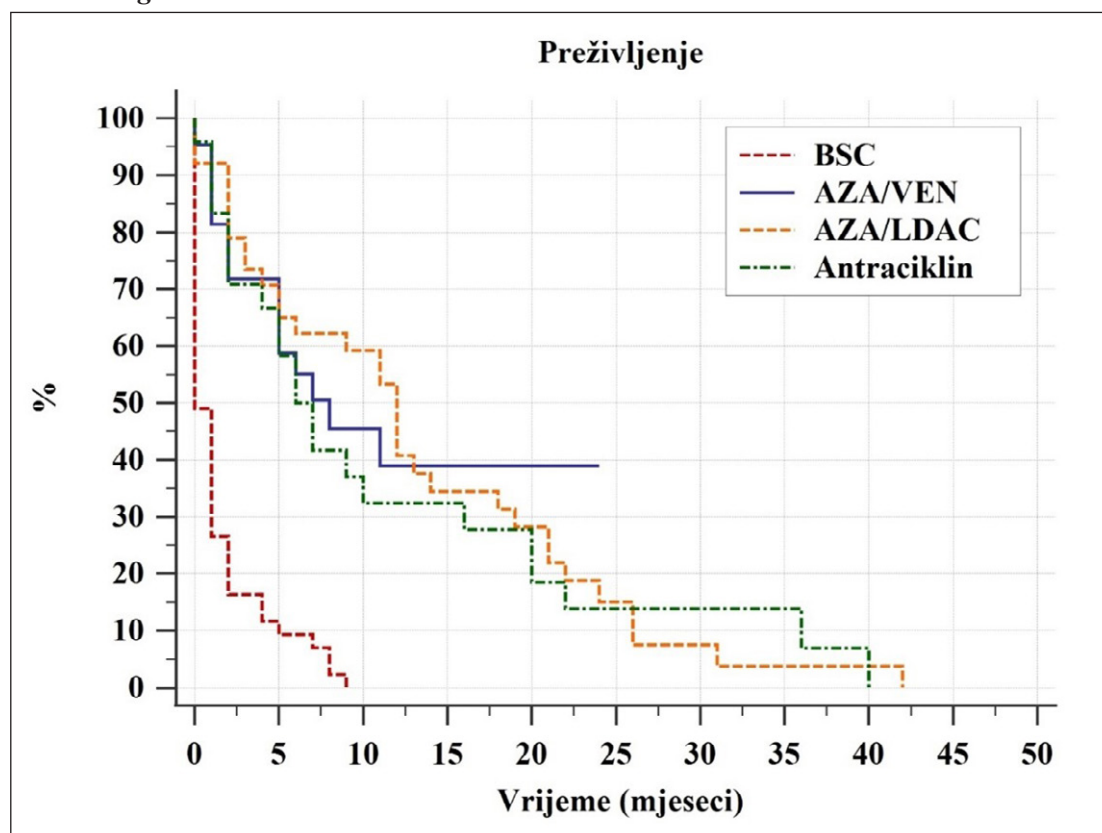
### Preživljenje

Medijan preživljenja za sve uključene bolesnike bio je 5 mjeseci (Slika 1) bez razlike u preživljenju ovisno o centru (p=0,211). Postojala je statistički značajna razlika u medijanima praćenja bolesnika liječenih različitim protokolima (p<0,001), a iznosila su 0, 5, 11 i 6,5 mjeseci kod bolesnika s BSC, AZA/VEN, AZA/LDAC i protokolima baziranim na antraciklinima. Najlošije preživljenje zabilježeno je u bolesnika liječenih s BSC (0 mjeseci, raspon 0-9), potom u onih liječenih antraciklinima u kombinaciji s citarabinom (medijan 6 mjeseci, raspon 2-40), zatim u onih liječenih s AZA/VEN (medijan 8 mjeseci, raspon 5-11), a najbolje u onih liječenih s AZA/LDAC (medijan 12 mjeseci, raspon 5-42; ukupan p<0,001 no bez statistički značajne razlike između pojedinih protokola), a kako je i prikazano na Slici 2. Također, nije postojala statistički značajna razlika u preživljenju bolesnika liječenih s monoterapijom AZA ili s LDAC (p=0,431).

Slika 1. Medijan preživljenja svih uključenih bolesnika. Korištena je Kaplan-Meierova metoda.



Slika 2. Preživljenje ovisno o modalitetu liječenja. BSC=najbolja suportivna skrb (engl. best supportive care), AZA/VEN (azacitidin i venetoklaks), AZA/LDAC (azacitidin ili niske doze citarabina), antraciklin=protokoli s antraciklinima i citarabinom. Za usporedbu preživljenja među skupinama bolesnika korištena je Kaplan-Meierova metoda i log-rank test.



Konačno, kako bi se identificirali potencijalni nezavisni prediktori preživljenja bolesnika, kreiran je Coxov multivarijantni regresijski model s klinički

potencijalno relevantnim varijablama, a koji je pokazao kako su viši broj ( $>8 \times 10^9/L$ ) leukocita (HR 2,61;  $p < 0,0001$ ), primjena kemoterapije (HR 0,28;

$p < 0,001$ ) i izostanak antimikrobne profilakse (HR 6,35,  $p = 0,017$ ) nezavisno povezani s boljim preživljenjem dok vrsta AML (primarna vs. sekundarna) te aCCI nisu bili statistički značajni.

## Rasprava

Ovo istraživanje je prvo koje je analiziralo ishode AML-a u županijskim bolnicama u RH. Nije bilo razlike u preživljenju ovisno o centru, no navedeni rezultati pokazuju kako su ishodi liječenja ovih bolesnika još uvijek nezadovoljavajući, s medijanom preživljenja od tek 5 mjeseci. Najlošiji ishodi zabilježeni su kod bolesnika na BSC, što je moguće uzrokovano i podmaklom životnom dobi, većim kumulativnim opterećenjem komorbiditetima ali i činjenicom da je velik dio tih bolesnika liječen i u ranijim godinama praćenja što sugerira bolju suportivnu skrb u recentno liječenih bolesnika. S tim u skladu je i činjenica da su bolji ishodi prikazani u AML bolesnika koji su primali trajnu antimikrobnu profilaksu.

Kombinacijom AZA/VEN postignuti su najdublji terapijski odgovori s najvišim brojem KR što, za sada, nije utjecalo na bolje preživljenje s AZA/VEN i koje je bilo podjednako s različitim kemoterapijskim protokolima. S druge strane, mnoge retrospektivne studije iz stvarnog života koje su analizirale ishode liječenja AML bolesnika s AZA/VEN također nisu uspjele polučiti rezultate slične onima iz registracijske studije.<sup>5-7</sup> Navedeno je vjerojatno vezano uz drukčiji profil bolesnika u stvarnom životu u odnosu na one iz dobro kontroliranih randomiziranih kliničkih studija. Ipak, treba naglasiti kako je medijan praćenja naših bolesnika liječenih s AZA/VEN bio dosta kraći u odnosu na one liječene s ostalim terapijskim protokolima što je uvjetovano tek odnedavnom dostupnošću ove terapijske kombinacije u RH. Bez obzira, dublji terapijski odgovori i prihvatljiva toksičnost kombinacije AZA/VEN ohrabrujući su i sugeriraju da bi duljim praćenjem ishodi bolesnika potencijalno mogli biti i bolji.

Tek kod 81 bolesnika (54,3%) rađena je evaluacija terapijskog odgovora na kemoterapijsko liječenje što ukazuje da se kod velikog dijela bolesnika odgovor na liječenje nije ni smatrao primarnim terapijskim ciljem, već je primarni fokus bio na suportivnu skrb. Ovo sugerira i činjenica da su tek četiri bolesnika na BSC evaluirana. Bez obzira, po prikazanim rezultatima čini se da je bolesnicima s AML nepodobnim za intenzivno kemoterapijsko liječenje u stvarnom životu ipak bolje ponuditi bilo kakvo kemoterapijsko liječenje nego BSC. Odborenjem novih "ciljanih" li-

jekova (npr. *FLT3* inhibitora gilteritiniba) u RH za relapsno/refraktorne AML bolesnike nepodobne za liječenje intenzivnim kemoterapijskim protokolima<sup>8</sup> te ohrabrujućim rezultatima tripleta (AZA/VEN + *FLT3* inhibitor/*IDH* inhibitor) u prvoj liniji liječenja AML<sup>9,10</sup>, opseg dijagnostike i načini liječenja će se sasvim sigurno u narednim godinama dodatno mjenjati i u županijskim bolnicama RH.

Nedostaci ovog istraživanja su retrospektivni dizajn sa svim svojim pristranostima, relativno malen broj uključenih bolesnika, te kratak medijan praćenja bolesnika liječenih s kombinacijom AZA/VEN. Bez obzira, navedeni rezultati po prvi put nam daju važan uvid u ishode bolesnika s AML liječenim u županijskim bolnicama RH. Dodatno praćenje bolesnika je u tijeku.

## Literatura:

1. DiNardo CD, Jonas BA, Pullarkat V, *i sur.* Azacitidine and Venetoclax in Previously Untreated Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 2020;383(7):617-629.
2. Halpern AB, Walter RB. Practice patterns and outcomes for adults with acute myeloid leukemia receiving care in community vs academic settings. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2020;2020(1):129-134.
3. Döhner H, Estey E, Grimwade D, *i sur.* Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood.* 2017;129(4):424-447.
4. Charlson M, Szatrowski TP, Peterson J, Gold J. Validation of a combined comorbidity index. *J Clin Epidemiol.* 1994;47(11):1245-1251.
5. Winters AC, Gutman JA, Purev E, *i sur.* Real-world experience of venetoclax with azacitidine for untreated patients with acute myeloid leukemia. *Blood Adv.* 2019;3(20):2911-2919.
6. Solana-Altabella A, Rodríguez-Veiga R, Martínez-Cuadrón D, Montesinos P. A systematic review of venetoclax for the treatment of unfit AML patients in real-world: is all that glitters gold? *Ann Hematol.* 2024.
7. Gershon A, Ma E, Xu T, *i sur.* Early Real-World First-Line Treatment With Venetoclax Plus HMAs Versus HMA Monotherapy Among Patients With AML in a Predominately US Community Setting. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2023;23(5):e222-e231.
8. Perl AE, Martinelli G, Cortes JE, *i sur.* Gilteritinib or Chemotherapy for Relapsed or Refractory *FLT3*-Mutated AML. *N Engl J Med.* 2019;381(18):1728-1740.
9. Short NJ, Daver N, Dinardo CD, *i sur.* Azacitidine, Venetoclax, and Gilteritinib in Newly Diagnosed and Relapsed or Refractory *FLT3*-Mutated AML. *J Clin Oncol.* 2024;42(13):1499-1508.
10. Lachowicz CA, Loghavi S, Zeng Z, *i sur.* A Phase Ib/II Study of Ivosidenib with Venetoclax ± Azacitidine in *IDH1*-Mutated Myeloid Malignancies. *Blood Cancer Discov.* 2023;4(4):276-293.

## Hrvatske smjernice za dijagnostiku i liječenje primarne i sekundarne mijelofibroze, Radna skupina Krohema za Ph-negativne MPN - 2024. godina

Marko Lucijanić<sup>1</sup>, Dubravka Čaržavec<sup>2</sup>, Davor Galušić<sup>3</sup>, Dragana Grohovac<sup>4</sup>, Hrvoje Holik<sup>5</sup>, Ivan Krečak<sup>6</sup>, Marin Kursar<sup>7</sup>, Marko Martinović<sup>7</sup>, Martina Morić Perić<sup>8</sup>, Vlatka Periša<sup>9</sup>, Jasminka Sinčić-Petričević<sup>9</sup>, Ranka Serventi-Seiwerth<sup>10</sup>, Pavle Rončević<sup>10</sup>, Josipa Vlasac Glasnović<sup>1</sup>, Renata Zadro<sup>11</sup>, Rajko Kušec<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinička bolnica Dubrava, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup> Klinički bolnički centar Sestre Milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup> Klinički bolnički centar Split, Split, Hrvatska

<sup>4</sup> Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>5</sup> Opća bolnica Josip Benčević, Slavonski Brod, Hrvatska

<sup>6</sup> Opća bolnica Šibensko-Kninske županije, Šibenik, Hrvatska

<sup>7</sup> Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>8</sup> Opća bolnica Zadar, Zadar, Hrvatska

<sup>9</sup> Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

<sup>10</sup> Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>11</sup> Specijalna bolnica Sv. Katarina, Zagreb, Hrvatska

Adresa za korespondenciju: markolucijanic@yahoo.com

### Uvod

Kronične bcr::abl negativne mijeloproliferativne neoplazme (MPN) uključuju tri klasična entiteta: policitemiju veru (PV), esencijalnu trombocitemiju (ET) i primarnu mijelofibrozu (PMF). Ove bolesti karakterizira konstitucijska aktivacija JAK-STAT signalnog puta uslijed stečenih mutacija u hematopoetskim progenitorskim stanicama [1]. Tri najčeće zahvaćena gena, a mutacije unutar kojih se smatraju međusobno isključujućim i za koje se smatra da pogone pojačani JAK-STAT signalni put, su JAK, CALR i MPL. Ovim bolestima vjerojatno prethodi duži vremenski period subklinički prisutnih mutacija unutar hematopoetskih progenitorskih stanica bez manifestnih hematoloških otklona koji bi ispunjavali kriterije bolesti, a što se naziva klonalnom hematopoezom neodređenog potencijala (clonal hematopoiesis of indeterminate potential; CHIP) [2]. Bolesnici s PMF mogu imati višegodišnji period pre-fibrotske, tj. rane mijelofibroze, bez izražene kolagene fibroze unutar koštane srži. Bolesnici s bcr::abl neg MPN s izraženom kolagenom fibrozom koštane srži mogu se prezentirati kao PMF ili kao sekundarna mijelofibroza (SMF) nakon ranije PV (post-PV SMF) ili ET (post-ET SMF).

U bolesnika s razvijenom fibrozom koštane srži kliničkim statusom dominiraju splenomegalija, anemija i izraženi konstitucijski simptomi u vidu umora, mršavljenja uz razvoj kaheksije, noćnih znojenja i subfebriliteta. Tijek bolesti karakteriziran je progresivnim razvojem insuficijencije koštane srži,

povećanim rizikom za razvoj akutne leukemije, infekcija i kardiovaskularnih incidenata i krvarenja. Prognosticiranje bolesti i temeljne kliničke odluke bazirane su na procjeni rizika smrti [3].

Prilikom pisanja ove smjernice u obzir su uzete relevantne kliničke smjernice drugih zemalja (ELN 2018 [4], ESMO 2015 [5], NCCN 2022 [6], Austrijske smjernice 2016 [7], BCSH 2023 [8]) i ranije hrvatske smjernice za mijelofibrozu iz 2016.

### Epidemiologija

Ne postoje dostupni pouzdani epidemiološki podaci za Republiku Hrvatsku. Prema literaturi incidencija mijelofibroze je 1-2/100 000 bolesnika godišnje [9]. Medijan dobi pri dijagnozi je 67 godina. 5-15% bolesnika dijagnosticira se kao mlađi od 40, odnosno 50 godina starosti. Očekuje se da će oko 15% bolesnika s PV ili ET razviti SMF tijekom svog života [10].

### Obrada pri dijagnozi

Obavezna je biopsija kosti odnosno patohistološka analiza koštane srži da bi se procijenio stupanj fibroze i broj blasta u koštanoj srži. Stupanj fibroze trebao bi biti stupnjevan prema Europskom konsenzusu [11].

Preporučeno je svim bolesnicima učiniti testiranje na BCR::ABL, JAK2, CALR i MPL mutacije. CALR i MPL nije potrebno raditi ukoliko je bolesnik JAK2 mutiran. Preporučeno je svim bolesnicima raditi citogenetiku koštane srži radi uvida u

postojanje Philadelphia kromosoma i radi preciznije stratifikacije rizika bolesti. Preporučeno je svim bolesnicima ukoliko je dostupno učiniti NGS radi uvida u prisustvo mutacija visokog rizika, a pogotovo u bolesnika koji su pogodni za liječenje alogeničnom transplantacijom koštane srži. Ukoliko se ne radi NGS, u slučaju značajne eozinofilije preporučeno je učiniti probir za preuredbe PDGFR A i B gena (obuhvaćeno većinom NGS panela).

Klinički status dovoljan je radi definiranja splenomegalije i kasnije praćenje odgovora na liječenje. Međutim zbog ograničenja osiguravajućeg društva radi propisivanja JAK inhibitora može se raditi i ponavljati slikovna obrada UZV, CT ili MR abdomena radi objektivizacije veličine slezene.

Simptome je preporučeno definirati pri dijagnozi i pratiti kroz MPN10 upitnik [12].

Preporuča se obrada na česte uzroke anemije, pogotovo procjena statusa ferograma (Fe, UIBC, TIBC, feritin), vitamin B12 i folna kiselina, razina eritropoetina, parametri hemolize i Coombsov test.

Preporučeno je dokumentirati druge, pogotovo metaboličke komorbiditete i uputiti bolesnike u konzilijarnu obradu.

### Dijagnostički kriteriji

Za postavljanje dijagnoze PMF i post-PV ili post-ET SMF preporučeno je koristiti međunarodno prihvaćene dijagnostičke kriterije Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) iz 2016. [1] ili 2022. godine [13] ili Međunarodne konsenzus klasifikacije (ICC) iz 2022. godine [14]. International Working Group for MPN Research and Treatment (IWGMRT) kriteriji iz 2008. godine mogu se koristiti za postavljanje dijagnoze post-PV ili post-ET SMF [15]. Razlike između ovih klasifikacija su diskretne.

### Skorovi rizika

Klasični skorovi rizika razvijeni za PMF (IPSS pri dijagnozi [16] i DIPSS pri dijagnozi ili u praćenju bolesnika [17]) mogu se koristiti i u (prefibratskih i razvijenih) PMF i u SMF bolesnika. Oni omogućavaju stratifikaciju rizika smrti i bazirani su na kliničkim parametrima, te su široko primjenjivi i adekvatni za korištenje s obzirom na jednostavnost i robustnost. Mogu se koristiti i preporučeno je koristiti novije bodovne sustave ukoliko bolesnici imaju dostupne potrebne podatke: DIPSS plus ukoliko postoje podaci o citogenetici [18], odnosno GIPSS [19], MIPSS70 [20], MIPSS70+ [21] i njihove varijante ukoliko bolesnici imaju dostupne potrebne molekularne analize.

U bolesnika s post-PV ili post-ET SMF može se koristiti i posebno razvijeni MYSEC-PM bodovni sustav [22], ali isti prepoznaje manji udio bolesnika s bolesti visokog rizika u odnosu na IPSS/DIPSS, te je adekvatno koristiti i IPSS/DIPSS/DIPSS plus bodovne sustave.

### Liječenje

Liječenje bolesnika s PMF i SMF bazirano je na riziku smrti procijenjenom kroz etablirane bodovne sustave, odnosno na prisustvu simptoma bolesti ili izraženih citoza ili splenomegalije. Preporučeno je uključivanje u kliničke studije ukoliko su one dostupne. Svakog bolesnika potrebno je razmotriti kao kandidata za alogeničnu transplantaciju koštane srži budući da je riječ o trenutno jedinoj opciji potpunog izlječenja.

Bolesnici niskog ili intermedijarnog 1 rizika prema DIPSS ili sličnom bodovnom sustavu, ukoliko su asimptomatski preporuča se praćenje svakih 3-6 mjeseci ili uključivanje u kliničke studije. Ukoliko imaju izražene simptome preporučeno je liječenje usmjereno na kontrolu simptoma, anemije, citoza, splenomegalije ili drugog kliničkog problema koji se smatra da je posljedica bolesti. JAK inhibitori, pegilirani interferoni, hidroksiurea ili drugo citoreduktivno liječenje su adekvatan terapijski odabir. Posebno je preporučljivo razmotriti pogodnost za alogeničnu transplantaciju koštane srži u bolesnika s niskim brojem trombocita, kompleksnom citogenetikom ili prognostički nepovoljnim mutacijama.

U bolesnika intermedijarnog 2 ili visokog rizika prema DIPSS ili sličnom bodovnom sustavu potrebno je primarno razmotriti pogodnost za alogeničnu transplantaciju koštane srži. Ukoliko bolesnik ima splenomegaliju ili konstitucijske simptome preporučeno je liječenje JAK inhibitorima (ruksolitinitib ili novije generacije kad budu dostupne), a u slučaju nepodnošenja ili gubitka odgovora preporučeno je promijeniti JAK inhibitor, uvesti hidroksiurea ili drugo citoreduktivno liječenje, ili pokušati ponovnu primjenu (rechallenge) istog lijeka. U slučaju niskog broja trombocita može se primijeniti niska doza ruksolitinitiba uz pojačani nadzor. U slučaju da je bolesnik splenektomiran prije ili tijekom bolesti, indicirano je liječenje ovisno o riziku bolesti i obično je usmjereno na kontrolu simptoma ili citoza. Liječenje JAK inhibitorima je indicirano provoditi do postojanja kliničkog odgovora ili neprihvatljive toksičnosti. Kontrola simptoma ima prednost u odnosu na kontrolu slezene glede procjene kliničke koristi liječenja. Preporuča se procjena kliničkog odgovo-

ra prema ELN kriterijima [23]. U slučaju prekida liječenja, preporučeno je postupno smanjivati dozu lijeka da se izbjegne sindrom ustezanja. U slučaju nemogućnosti liječenja JAK inhibitorima može se pokušati kontrola simptoma citoreduktivnim lijekovima poput hidroksiuree ili busulfana, pegiliranim interferonima ili malim dozama kortikosteroida.

### **Simptomatski bolesnici s prefibrotskom PMF ili PV uz retikulinsku fibrozu**

Razlikovanje prefibrotske PMF of ET nije moguće ukoliko se ne učini biopsija kosti prilikom dijagnoze, što bi trebao biti obavezni postupak u obradi svih bolesnika s trombocitozom suspektnom na MPN. Većina bolesnika s prefibrotskom PMF ima kliničku sliku sukladnu ET-u, uz odsustvo ili malo opterećenje simptomima, trombocitozu uz blagu leukocitozu, povišen LDH, s ili bez palpabilne splenomegalije. Iako bolesnici s prefibrotskom PMF imaju veću sklonost razvoju razvijene mijelofibroze i progresije u akutnu leukemiju nego ET bolesnici, trombotski rizik vezan uz prefibrotsku PMF sukladan je ET-u. Ove bolesnike bi trebalo nadzirati i liječiti sukladno trombotskom riziku kako je ustaljeno za ET (procjena rizika prema IPSET skorom i sukladno liječenju).

Većina bolesnika s prefibrotskom PMF ima niski ili intermedijarni-1 rizik kad se evaluira prema DIPSS ili sličnom bodovnom sustavu. Međutim dio bolesnika može imati kliničku sliku u potpunosti nalik razvijenoj mijelofibrozi, uz izražene simptome i splenomegaliju i intermedijarni ili visok rizik bolesti, dok se u biopsiji koštane srži ne uspije dokazati dovoljan stupanj fibroze za dijagnozu razvijene mijelofibroze. U ovih bolesnika preporuča se liječenje ruxsolitinibom ili drugim JAK inhibitorima kao i kod razvijene mijelofibroze.

Slično tome, dio bolesnika s PV može razvijati kliničke simptome i splenomegaliju, uz manju potrebu za venepunkcijama ili anemiju, te klinički biti suspektan na razvoj post-PV SMF, a da se ne uspije dokazati dovoljan stupanj fibroze koštane srži za postavljanje dijagnoze post-PV SMF (fenotip gradus 1 fibroze [24]). Ove bolesnici imaju kliničku prezentaciju sličnu onima s razvijenom mijelofibrozom i također ih se preporuča liječiti ruxsolitinibom (odnosno drugim JAK inhibitorima kad budu registrirani). Potiče se sudjelovanje u dostupnim kliničkim studijama.

### **Anemija**

Preporučeno je aktivno potražiti alternativne uzroke anemije i pokušati korekciju mogućih uzro-

ka. Poželjno je napraviti procjenu statusa ferograma (Fe, UIBC, TIBC, feritin), vitamin B12 i folnu kiselinu, razinu eritropoetina, parametre hemolize i Coombsov test. Transfuzijsko liječenje je poželjno smanjiti na najmanju moguću mjeru. Potrebno je u slučaju ovisnosti o transfuziji mjeriti razinu feritina, te ukoliko je feritin >1000 mcg/L ili je bolesnik primio više od 20 doza eritrocita, uvesti kelatore željeza ako ih bolesnik tolerira.

U bolesnika s anemijom može se razmotriti terapija eritropoetinom ako je eritropoetin <500 IU/L. Za stimuliranje eritropoeze moguće je koristiti danazol (ukoliko bolesnik nema rak prostate ili drugi o androgenima ovisni tumor), luspatercept, talidomid i prednizon, lenalidomid i prednizon (ako je prisutna del(5q). Kad budu dostupni može se razmotriti liječenje momelotinibom, pakritinibom, ili drugim JAK inhibitorima s protuanemijskim učinkom, pogotovo u bolesnika s prisutnom splenomegalijom i konstitucijskim simptomima koji su kandidati za liječenje JAK inhibitorima.

### **Kontrola splenomegalije ili drugih lokacija ekstramedularne eritropoeze**

Kao najučinkovitija opcija liječenja splenomegalije smatraju se JAK inhibitori i preporuča se njihovo korištenje radi kontrole veličine slezene. Moguće je pokušati s drugom citoreduktivnom terapijom ukoliko liječenje JAK inhibitorima nije moguće. U slučaju refraktorne splenomegalije i refraktorne anemije može se pokušati zračenje slezene. Elektivna splenektomija se ne preporučuje zbog visoke stope komplikacija, ali se može učiniti kad nema drugih opcija. Zračenje slezene i splenektomija se mogu razmotriti kod teške refraktorne anemije, portalne hipertenzije s komplikacijama (krvarenja iz variksa, refraktorni ascites) ili teških kataboličkih simptoma kao palijativna mjera liječenja. U slučaju rupture slezene indicirana je splenektomija. Tkiva ekstramedularne hematopoeze s kompresivnim ili drugim učincima koji zahtijevaju liječenje mogu se zračiti.

### **Trombocitopenija**

Trombocitopenija ograničava liječenje punim dozama JAK inhibitora i drugih lijekova (npr. otežava puno doziranje ili primjenu antikoagulantne ili antiagregacijske terapije jer povećava rizike krvarenja). Izuzev transfuzija trombocita u slučaju trombocitopenije koja bi zahtijeva korekciju, nema specifične terapije koja bi se mogla preporučiti kao učinkovito liječenje [25]. Može se pokušati s kortikosteroidnom terapijom i IVIGima u slučaju sumnje na doprinos

imunih mehanizama trombocitopeniji. Nema dovoljno podataka za preporuku agonista trombopoetinskih receptora u bolesnika s mijelofibrozom i trombocitopenijom, dok postoji mogućnost profibrotskog djelovanja ovih lijekova.

U bolesnika u kojih je potrebno liječenje JAK inhibitorima, trombocitopenija ograničava mogućnost punog doziranja, ali je moguće uz povećani nadzor primjenjivati ruksolitnib i druge JAK inhibitore. Kad budu dostupni, u ovom kontekstu je moguće liječenje pakritinibom i momelotinibom.

## Trudnoća

Iako je trudnoća iznimno rijetka situacija s obzirom na medijan dobi pojavnosti mijelofibroze, trudnoće u bolesnica generativne dobi s mijelofibrozom su moguće. Medicinska literatura ne navodi da bi bolest imala veću sklonost progresiji ili poboljšanju tijekom trudnoće [26]. Trudnoća je hiperkoagulabilno stanje i povećava rizik venskih tromboza. Trudnoća također može dovesti do povećanja portalne hipertenzije, pogotovo u bolesnika s od ranije prisutnim splanhičkom trombozom. Ishodi trudnoće u bolesnica s MPN su lošiji nego u općoj populaciji [27] te postoje retrospektivni dokazi da bi upotreba interferona i aspirina mogla poboljšati ishode u PV i ET bolesnika [27]. Budući da je kod trudnoće riječ o vremenski ograničenom razdoblju, potrebno je prilagoditi modalitete liječenja na način da se prekinu potencijalno teratogeni lijekovi (JAK inhibitori). Za JAK inhibitore nema dovoljno dokaza o njihovoj sigurnosti tijekom trudnoće (iako su prijavljeni uspješni ishodi trudnoće i uz izlaganje ovim lijekovima tijekom prvog trimestra [28]). Preporuča se terapijski pristup sukladan preporukama za druge bcr::abl entitete (pegilirani interferon, aspirin ili LMWH) [26, 29].

## Reference:

1. 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(20):2391-405.
2. Xie Z, DeZern AE. How Great Is the Threat of Clonal Hematopoiesis? Let This New Risk Score Be Your Guide. *NEJM Evid*. 2023;2(5):EVIDe2300053.
3. Savona MR. Are we altering the natural history of primary myelofibrosis? *Leuk Res*. 2014;38(9):1004-12.
4. Heidel FH, Gale RP, Hochhaus A. Managing myeloproliferative neoplasms evidence based on the ELN treatment recommendations 2018. *Leukemia*. 2018;32(5):1055-6.
5. Vannucchi AM, Barbui T, Cervantes F, Harrison C, Kiladjan JJ, Kröger N, et al. Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative neoplasms: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2015;26 Suppl 5:v85-99.
6. Gerds AT, Gotlib J, Ali H, Bose P, Dunbar A, Elshoury A, et al. Myeloproliferative Neoplasms, Version 3.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2022;20(9):1033-62.
7. Sliwa T, Beham-Schmid C, Burgstaller S, Buxhofer-Ausch V, Gastl G, Geissler K, et al. Austrian recommendations for the management of primary myelofibrosis, post-polycythemia vera myelofibrosis and post-essential thrombocythemia myelofibrosis: an expert statement. *Wien Klin Wochenschr*. 2017;129(9-10):293-302.
8. McLornan DP, Psaila B, Ewing J, Innes A, Arami S, Brady J, et al. The management of myelofibrosis: A British Society for Haematology Guideline. *Br J Haematol*. 2024;204(1):136-50.
9. Breccia M, Palandri F, Polverelli N, Caira M, Berluti M, Palumbo GA, et al. Epidemiology and disease characteristics of myelofibrosis: a comparative analysis between Italy and global perspectives. *Front Oncol*. 2024;14:1382872.
10. Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, Kvasnicka HM, Vannucchi AM, Guglielmelli P, et al. The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and in-depth discussion. *Blood Cancer J*. 2018;8(2):15.
11. Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, Franco V, van der Walt J, Orazi A. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica*. 2005;90(8):1128-32.
12. Emanuel RM, Dueck AC, Geyer HL, Kiladjan JJ, Slot S, Zweegman S, et al. Myeloproliferative neoplasm (MPN) symptom assessment form total symptom score: prospective international assessment of an abbreviated symptom burden scoring system among patients with MPNs. *J Clin Oncol*. 2012;30(33):4098-103.
13. Khoury JD, Solary E, Abla O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1703-19.
14. Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP, Borowitz MJ, Calvo KR, Kvasnicka H-M, et al. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood*. 2022;140(11):1200-28.
15. Barosi G, Mesa RA, Thiele J, Cervantes F, Campbell PJ, Verstovsek S, et al. Proposed criteria for the diagnosis of post-polycythemia vera and post-essential thrombocythemia myelofibrosis: a consensus statement from the International



- Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Leukemia*. 2008;22(2):437-8.
16. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, Passamonti F, Reilly JT, Morra E, et al. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood*. 2009;113(13):2895-901.
  17. Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, Morra E, Rumi E, Pereira A, et al. A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood*. 2010;115(9):1703-8.
  18. Gangat N, Caramazza D, Vaidya R, George G, Begna K, Schwager S, et al. DIPSS plus: a refined Dynamic International Prognostic Scoring System for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status. *J Clin Oncol*. 2011;29(4):392-7.
  19. Tefferi A, Guglielmelli P, Nicolosi M, Mannelli F, Mudireddy M, Bartalucci N, et al. GIPSS: genetically inspired prognostic scoring system for primary myelofibrosis. *Leukemia*. 2018;32(7):1631-42.
  20. Guglielmelli P, Lasho TL, Rotunno G, Mudireddy M, Mannarelli C, Nicolosi M, et al. MIPSS70: Mutation-Enhanced International Prognostic Score System for Transplantation-Age Patients With Primary Myelofibrosis. *J Clin Oncol*. 2018;36(4):310-8.
  21. Tefferi A, Guglielmelli P, Lasho TL, Gangat N, Ketterling RP, Pardani A, et al. MIPSS70+ Version 2.0: Mutation and Karyotype-Enhanced International Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis. *J Clin Oncol*. 2018;36(17):1769-70.
  22. Passamonti F, Giorgino T, Mora B, Guglielmelli P, Rumi E, Maffioli M, et al. A clinical-molecular prognostic model to predict survival in patients with post polycythemia vera and post essential thrombocythemia myelofibrosis. *Leukemia*. 2017;31(12):2726-31.
  23. Tefferi A, Cervantes F, Mesa R, Passamonti F, Verstovsek S, Vannucchi AM, et al. Revised response criteria for myelofibrosis: International Working Group-Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment (IWG-MRT) and European LeukemiaNet (ELN) consensus report. *Blood*. 2013;122(8):1395-8.
  24. Gowin K, Verstovsek S, Daver N, Pemmaraju N, Valdez R, Kosiorek H, et al. Limitations of fibrosis grade as diagnostic criteria for post polycythemia vera and essential thrombocytosis myelofibrosis. *Leuk Res*. 2015.
  25. Tremblay D, Baine I, Mascarenhas J. Thrombocytopenia in Patients With Myelofibrosis: A Practical Management Guide. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2022;22(12):e1067-e74.
  26. Robinson S, Ragheb M, Harrison C. How I treat myeloproliferative neoplasms in pregnancy. *Blood*. 2024;143(9):777-85.
  27. Maze D, Kazi S, Gupta V, Malinowski AK, Fazelzad R, Shah PS, et al. Association of Treatments for Myeloproliferative Neoplasms During Pregnancy With Birth Rates and Maternal Outcomes: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2019;2(10):e1912666.
  28. Urosevic I, Dokic M, Percic I, El Farra A, Bjelogrić D, Sekulic B. Successful pregnancy outcome in a patient with myelofibrosis receiving ruxolitinib treatment in the first trimester. *Leuk Lymphoma*. 2024;65(10):1535-7.
  29. Gangat N, Tefferi A. Myeloproliferative neoplasms and pregnancy: Overview and practice recommendations. *Am J Hematol*. 2021;96(3):354-66.

## Evansov sindrom - Krohemova studija

**Zdravko Mitrović<sup>1,2</sup>, Marijo Vodanović<sup>3</sup>, Petra Berneš<sup>4</sup>, Hrvoje Holik<sup>5</sup>, Dragana Grohovac<sup>6</sup>, Branimir Barišić<sup>7</sup>, Ivan Krečak<sup>8</sup>, Renata Babok Flegarić<sup>9</sup>, Ante Dobričić<sup>10</sup>, Dubravka Čaržavec<sup>11</sup>, Inga Mandac Smoljanović<sup>2,12</sup>, Jasminka Sinčić Petričević<sup>13</sup>, Mirela Raos<sup>2,14</sup>, Ana Boban<sup>2,3</sup>, Dražen Pulanić<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti KB Dubrava;

<sup>2</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu;

<sup>3</sup>Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Zagreb;

<sup>4</sup>Odjel za internu medicinu, OB Pula, Zavod za hematologiju;

<sup>5</sup>Odjel za hematologiju i onkologiju, Dr. Josip Benčević, Slavonski Brod;

<sup>6</sup>Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Rijeka;

<sup>7</sup>Odjel za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti KB Sveti Duh;

<sup>8</sup>Odjel za internu medicinu, OB Šibenik;

<sup>9</sup>Odjel za internu medicinu, OB Varaždin;

<sup>10</sup>Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Split;

<sup>11</sup>Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Sestre Milosrdnice;

<sup>12</sup>Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KB Merkur;

<sup>13</sup>Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Osijek;

<sup>14</sup>Zavod za transfuzijsku medicinu, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Zagreb

Evansov sindrom (u nekim centrima u Hrvatskoj poznat i kao Fisher-Evansov sindrom) je definiran istodobnom ili sekvencijalnom pojavom dviju autoimunih citopenija – najčešće su to autoimuna hemolitička anemija (AIHA) i imunosna trombocitopenija (ITP). Međutim, u 10-15% slučajeva, javlja se i autoimuna neutropenija (AIN) (1). Radi se o rijetkoj bolesti, s incidencijom od oko 1 do 9 slučajeva na milijun stanovnika, odnosno prevalencijom od 21 na milijun stanovnika (1,2). Koliko je to rijetko stanje oslikava i činjenica da se Evansov sindrom dijagnosticira u samo 1-4% bolesnika koji su ranije imali ITP ili AIHA-u. Prema dvjema retrospektivnim studijama na 68 odnosno 116 bolesnika, medijan dobi je 51- 58g i nešto češći je u žena (51- 60%) (3,4). U 30-50% slučajeva dolazi do istodobne pojave imunih citopenija, a ako se jave sekvencionalno, medijan razmaka je oko 3-4 godine. Primarni Evansov sindrom se javlja u oko 50-79% odraslih bolesnika, dok je sekundarni zastupljeniji u pedijatrijskoj dobi i upotrebom sekvencioniranja iduće generacije (NGS) sve se češće dijagnosticira. Najčešći sekundarni uzroci Evansovog sindroma su autoimune bolesti (SLE, Sjögren, antifosfolipidni sindrom), imunodeficijencije (ALPS - autoimuni limfoproliferativni sindrom, CVID – kombinirana varijabilna imunodeficijencija, IgA deficijencija), limfoproliferacije i ostali tumori (CLL, NHL, MGUS, CMML,...), virusne infekcije (Hepatitis C, HIV, SARS CoV-2), a može se javiti i nakon alogenične transplantacije krvotvornih matičnih stanica (1). Terapija Evansovog sindroma nije

standardizirana: u slučajevima istodobne pojave, liječi se po smjernicama za težu citopeniju, a to je u pravilu AIHA čija težina determinira prognozu bolesnika. Prva linija su kortikosteroidi +/- intravenski imunoglobulini (IVIg), a dalje se daju rituksimab, agonisti trombopoetinskih receptora (TPO-RA) za ITP, drugi imunosupresivi poput mikofenolat mofetila (MMF), azatioprina i sirolimusa te naravno terapija za liječenje osnovne bolesti u slučajevima sekundarnog Evansovog sindroma (npr. limfoproliferacija). Ove godine su po prvi puta izašle smjernice za dijagnostiku i liječenje Evansovog sindroma, kao konsenzus preporuke eksperata (5). Što se tiče dugoročne prognoze bolesnika, važno je naglasiti da riječ zapravo o kroničnoj bolesti sa sklonostima relapsima u čijoj podlozi je teški poremećaj imune regulacije. U francuskoj studiji (3), samo 32% bolesnika je u remisiji bez liječenja nakon praćenja od blizu 5 godina. Bolesnici su skloni razviti autoimune bolesti (posebno SLE). Mortalitet je 20-24% zbog infekcija, tromboembolijskih događaja i krvarenja.

U retrospektivnoj Krohemovoj studiji identificirana su 32 odrasla bolesnika iz 12 hrvatskih centara. Bilo je 23 žene i 9 muškaraca s medijanom dobi 46 godina (raspon od 20 do 84 godine) u trenutku pojave druge citopenije. U našoj kohorti primarni Evans je dijagnosticiran u 60%, a sekundarni u 40% pacijenata (kolagenoza kod sedam bolesnika, limfoproliferacija u četiri bolesnika i CVID u dva bolesnika). Dva bolesnika su imala AIN, sve ostali su imali AIHA-u i ITP. Istodobna prezentacija zabilježena je u

1/3 pacijenata, a sekvencijska prezentacija kod ostalih (u 1/3 bolesnika najprije AIHA, a preostale 1/3 prvo ITP). Medijan vremena između prve i druge citopenije iznosio je 36 mjeseci (raspon od 1 do 312 mj.) Nakon medijana praćenja od 30 mjeseci (raspon od 1 do 238), četiri bolesnika (12.5%) su umrli (dva od infekcija), a četiri bolesnika (12.5%) su imala DVT kao komplikaciju. Svih 32 bolesnika je liječeno kortikosteroidima +/- IVIg. Točno polovica bolesnika je dobilo rituksimab, sedam bolesnika je liječeno TPO-RA, šest bolesnika imunosupresivima (azatioprin i MMF), a pet bolesnika je splenektomirano. Sekundarni Evansov sindrom (kod 13 bolesnika) je liječen kao B-stanični NHL, IVIg-om kao imunosupstitucijom i hidrosiklorokinom. U trenutku zadnje kontrole 22 (69%) bolesnika je pod terapijom koja je uključivala samo nisku dozu kortikosteroida (11 bolesnika), steroide u kombinaciji s imunosupresivima (dva bolesnika) ili TPO-RA (dva bolesnika), sami TPO-RA (dva bolesnika), imunosupresivi (jedan bolesnik), kombinacija TPO-RA i imunosupresiva (jedan bolesnik), rituksimab (jedan bolesnik); ostala terapija uključivala je ibrutinib i IVIG (po jedan bolesnik).

Zaključno, epidemiološke i kliničke značajke u Krohemovoj studiji odgovaraju onima opisanim u drugim serijama bolesnika, s time da su naši bolesnici nešto mlađi i veći je postotak žena. Otprilike 2/3 naših bolesnika su na produljenoj terapiji niskim dozama kortikosteroida +/- imunosupresivi +/- TPO-RA. Liječenje je dovelo od infekcija s letalnim ishodom u 6% bolesnika, 12.5% ih je imalo tromboembolijski incident. Za očekivati da je će prvi publicirani međunarodni konsenzus eksperata iz 2024. godine pridonijeti standardizaciji dijagnostike i unaprjeđenju liječenja Evansovog sindroma (5).

**Tablica 1. Značajke naših bolesnika s Evansovim sindromom**

Broj bolesnika	N = 32
Spol	23 žene, 9 muškaraca
Dob (medijan, raspon)	46 godina (20 - 84)
Primarni / sekundarni Evans	60% / 40%
Istodobni / sekvencijski	33% / 66%
Vrijeme od 1. do 2. citopenije (medijan, raspon)	36 mjeseci (1 - 312)
Stopa dubokih venskih tromboza	12.5%

#### Reference:

1. Audia S, Grienay N, Mounier M, Michel M, Bonnotte B. Evans' syndrome: from diagnosis to treatment. *J Clin Med* 2020; 9: 3851.
2. Hansen DL, Moller S, Andersen K, Gaist D, Frederiksen H. Evans syndrome in adults — incidence, prevalence, and survival in a nationwide cohort. *Am J Hematol* 2019; 94: 1081–90.
3. Michel M, Chanet V, Dechartres A, et al. The spectrum of Evans syndrome in adults: new insight into the disease based on the analysis of 68 cases. *Blood* 2009; 114: 3167–72.
4. Fattizzo B, Michel M, Giannotta JA, et al. Evans syndrome in adults: an observational multicenter study. *Blood Adv* 2021; 5: 5468–78.
5. Fattizzo B, Marchetti M, Michel M, et al. Diagnosis and management of Evans syndrome in adults: first consensus recommendations. *Lancet Haematol.* 2024; 11: e617-e628.

## DAT-negativna autoimunosna hemolitička anemija

Mirela Raos<sup>1,2</sup>, Dražen Pulanić<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, KBC Zagreb

<sup>2</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

<sup>3</sup>Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti, KBC Zagreb

Autoimunosna hemolitička anemija (AIHA) je rijetka bolest imunskog sustava koju karakterizira hemoliza vlastitih eritrocita uzrokovana autoprotutijelima i/ili aktiviranim komponentama komplemента. Ovisno o osnovnoj bolesti, AIHA može biti primarna ili sekundarna, a prema serološkim karakteristikama autoprotutijela dijeli se na toplu (65% do 70%), hladnu (15% do 20%) i miješanu (5% do 8%). Dijagnoza bolesti postavlja se na temelju pozitivnog rezultata direktnoga antiglobulinskog testa (DAT), anemije i prisutnih laboratorijskih pokazatelja hemolize (1). U vrlo rijetkim slučajevima (5%) mogući su oblici AIHA anemija s negativnim DAT-om. DAT-negativna AIHA uzrokovana je autoprotutijelima IgG ispod praga osjetljivosti testa ili rjeđe autoprotutijelima IgM ili IgA koja se ne otkrivaju rutinskim testiranjem (2).

Kao i kod ostalih DAT-pozitivnih AIHA, u kliničkoj slici prisutni su klasični simptomi anemije: slabost, umor, blijedoća, žutilo kože i bjeloočnica, vrtoglavica, dispneja i tahikardija. Uz anemiju i najčešće retikulocitozu, prisutni su laboratorijski pokazatelji hemolize; haptoglobin je snižen, povišene su vrijednosti laktat-dehidrogenaze (LDH) i bilirubina, posebice nekonjugiranog, a u perifernom razmazu mogu se prikazati sferociti. U otprilike trećine pacijenata s DAT-negativnom AIHA-om hemoglobin je niži od 70 g/L. (3) Snižen broj retikulocita može biti rezultat smanjenog odgovora koštane srži u kompenziranju anemije u slučaju nedostatka željeza, bolesti koštane srži, primjene lijekova ili nekih infekcija.

Međutim, za razliku od DAT-pozitivnih AIHA kod kojih su osnovni imunohematološki testovi (DAT i indirektni antiglobulinski test, IAT) pozitivni, kod DAT-negativne AIHA-e, oba su testa negativna. Iako svaki laboratorij ima svoje algoritme testiranja, u rutinskom testiranju DAT se određuje pomoću polispecifičnog antiglobulinskog reagensa koji sadrži anti-IgG i anti-C3d komponentu, dok se u daljnjem testiranju primjenjuju monospecifični reagensi (anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA, anti-C3c i anti-C3d). U ovakvim slučajevima unatoč negativnom DAT-u postoji izrazita sumnja da se radi o DAT-negativnoj AIHA-i zbog prisutnih laboratorijskih

pokazatelja anemije i hemolize uz retikulocitozu. Za otkrivanje niže količine vezanih IgG protutijela na eritrocitima potrebno primijeniti osjetljivije metode, npr. test aglutinacije u stupcu (gel, kuglice), protočnu citometriju, koncentriranje eluata, mitogenima stimulirani DAT, ili se može primijeniti specifični IgM, odnosno IgA monospecifični serum koji će otkriti vezana IgM, odnosno IgA protutijela na eritrocitima (2, 4). Valja napomenuti da većina navedenih testova nije dostupna u svim imunohematološkim laboratorijima, već samo u referalnim laboratorijima.

U liječenju DAT-negativne AIHA-e se u prvoj liniji primjenjuju kortikosteroidi. Ukoliko su imunohematološki testovi negativni, a prisutni su znakovi hemolize te su isključeni svi drugi uzroci hemolize i postoji odgovor na terapiju steroidima, može se zaključiti da se radi o DAT-negativnoj AIHA-i. Obzirom da bolesnici s DAT-negativnom AIHA-om često imaju teški tijek bolesti s teškom hemolizom, uz kortikosteroide, u prvoj liniji potrebno je razmotriti primjenu rituksimaba. (4, 5) U slučajevima refraktorne AIHA-e, kao i kod tolpe AIHA-e, potrebno je primijeniti rituksimab, imunosupresivne lijekove (azatioprin, ciklofosfamid, ciklosporin, mikofenolat mofetil), splenektomiju ili primijeniti neke od ostalih terapija (dazanol, alemtuzumab, visoke doze ciklofosfamida).

### Literatura:

1. Raos M., Pulanić D, Maljković S, Golubić Čepulić B. Novosti u dijagnostici i liječenju autoimunosne hemolitičke anemije. *Liječ Vjesn* 2023; 145:32-42.
2. Rodberg K. DAT-negative autoimmune hemolytic anemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2022; 36 (2): 307-313.
3. Barcellini W, Fattizzo B, Zaninoni A, Radice T, Nichele I, Di Bona E i sur. Clinical heterogeneity and predictors of outcome in primary autoimmune hemolytic anemia: a GIMEMA study of 308 patients. *Blood.* 2014;124(19):2930–6.
4. Barcellini W, Fattizzo B. Strategies to overcome the diagnostic challenges of autoimmune hemolytic anemias. *Expert review of hematology* 2023; 16(7):515-524.
5. Morbieu C, Leblanc T, Malphettes M, Petitditdier C, Durin J, Haioun C i sur. Characteristics and Outcome of DAT-Negative Autoimmune Hemolytic Anemia: Results from a French Multicentre Observational Study. *Blood.* 2018;132 (Suppl 1): 3619.

## Četvrti sastanak Radne skupine za benigne hematološke bolesti Krohema, Brijuni, rujan 2024.

### Dražen Pulanić

*Voditelj Radne skupine za benigne hematološke bolesti Krohema*

Na Brijunima je 6. i 7. rujna 2024. održan Četvrti sastanak Radne skupine za benigne hematološke bolesti Krohema.

Radna skupina za benigne hematološke bolesti osnovana je u svibnju 2018. na sastanku Krohema u Vukovaru kao najmlađa radna skupina Krohema i do sada je vrlo aktivna sa stručnim sastancima i publikacijama, te drugim aktivnostima. Za izdvojiti je publiciranje nacionalnih smjernica za liječenje različitih ne-malignih bolesti (prve hrvatske smjernice za aplastičnu anemiju i trombotičnu trombocitopeničnu purpuru (TTP), dopune hrvatskih smjernica za imunosnu trombocitopeniju (ITP), te anemiju zbog manjka željeza), provođenje kooperativnih istraživanja s kongresnim priopćenjima i drugim publikacijama, te izrada baze benignih hematoloških bolesti.

Ovogodišnji Četvrti sastanak Radne skupine za benigne hematološke bolesti bio je podijeljen tematski u dvije cjeline: prvog dana 6. rujna prvo se raspravila baza benignih hematoloških bolesti, a zatim je taj dan bio posvećen različitim anemijama i drugim ne-malignim i rijetkim bolestima (aplastična anemija, paroksizmalna noćna hemoglobinurija, hemoglobinopatije, Evansov sindrom, autoimunosne

hemolitičke anemije, sideropenična anemija, perioperativna skrb, Gaucherova bolest, bolesti mastocita, umjetna inteligencija u dijagnosticiranju rijetkih bolesti). Idući dan, 7. rujna, teme su bile dominantno trombocitopenije poput ITP-a i TTP-a, trombocitopenije u jetrenoj bolesti, druge trombotske mikroangiopatije, te neutropenije. Na sastanku je sudjelovalo više od 70 sudionika, hematologa i drugi stručnjaka iz velikog broja hrvatskih centara, a sudjelovali su i specijalisti drugih grana medicine s kojima usko surađuju hematolozi (transfuziologija, anesteziologija, ginekologija, gastroenterologija-hepatologija, medicinska biokemija). Na sastanku je aktivno sudjelovao i jedan od najuglednijih stručnjaka u svijetu iz područja ITP-a prof. dr. Waleed Ghanima iz Norveške, sa zanimljivim predavanjem o aktualnim i budućim terapijama za ITP. Nakon svakog predavanja slijedile su zanimljive rasprave. Sastanak je održan u ugodnom i vedrom raspoloženju, potaknuvši nove znanstvene i stručne inicijative u sklopu Radne skupine. Svakako je potrebno istaknuti i zahvaliti se brojnim sponzorima koji su poduprli održavanje ovog sastanka. Idući 5. sastanak Radne skupine za benigne hematološke bolesti Krohema planira se u rujnu 2025. ponovno na Brijunima.

**Slika 1. Sudionici Četvrtog sastanka Radne skupine za benigne hematološke bolesti Krohema na Brijunima.**



## 22. sastanak Europskog društva za hematopatologiju, Dubrovnik, rujan 2024.

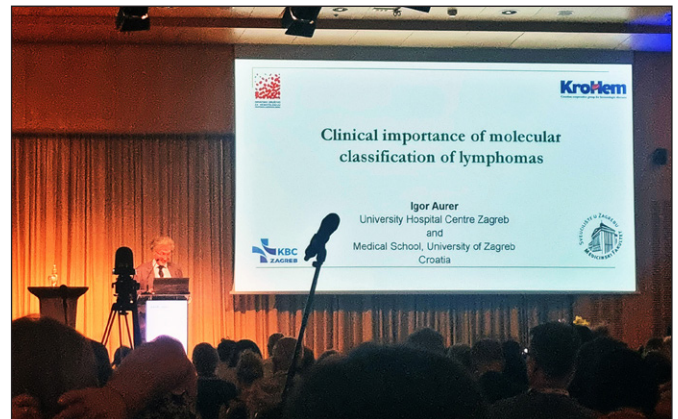
Ivana Ilić

U Dubrovniku je od 21. do 26. rujna 2024. održan 22. sastanak Europskog društva za hematopatologiju (engl. European Association for Haematopathology, EAHP). Uz lokalni organizacijski odbor koji su činili doc. dr. sc. Snježana Dotlić, prof. dr. sc. Slavko Gašparov, dr. Velibor Puzović, prof. prim. dr.sc. Igor Aurer i prim. dr.sc. Sandra Bašić-Kinda podršku ovom sastanku osigurao je i KROHEM.

Sastanci EAHP održavaju se svake druge godine s ciljem prikazivanja novih znanstvenih i stručnih spoznaja iz područja dijagnostike bolesti hematološkog sustava, no u svom praktičnom dijelu Sastanka redovito se promjene u klasifikaciji i dijagnostici neoplazmi hematološkog sustava povezuju s utjecajem navedenog na odabir terapije i na ishod liječenja pa su tako na Sastancima EAHP, uz patologe i molekularne biologe, redovito prisutni i hematolozi.



Shodno tome, uvodno predavanje „Klinička važnost molekularne klasifikacije limfoma“ održao je prof. prim. dr. sc. Igor Aurer, pročelnik Zavoda za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Zagreb. Predavanje je bilo stručno, praktično i zanimljivo čime je publika bila zadovoljna, a čestim i glasnim smijehom popratila je oduševljeno brojne duhovite primjedbe prof. Aurera kojima je bilo prožeto predavanje.



Tri dana sastanka su bila posvećena temama limfoproliferativnih bolesti. Ove godine naglasak je stavljen na pedijatrijske indolentne limfome s pitanjem jesu li pedijatrijski folikularni limfom i pedijatrijski limfom marginalne zone spektar iste bolesti i je li ispravno ovakvu indolentnu bolest kod djece nazvati limfom ili bi bolji naziv bio limfoproliferativna bolest. Kako je već godinama uobičajeno, do izražaja su došle i teme dvojbene patohistološke slike između reaktivnih i neoplastičnih limfoproliferacija pogotovo atipičnih limfoproliferacija potaknutih terapijskim intervencijama. Najviše pitanja i sporova potaknuto je predavanjima o novim metodama molekularne dijagnostike, njihovoj dostupnosti u pojedinim centrima i zemljama, cijeni i njihovoj nužnosti pri postavljanju dijagnoze. Umirujuće je vidjeti da financijski i organizacijski aspekt dijagnostike nije problem samo naše zemlje.



U danu u kojem se obrađuje dijagnostika bolesti koje zahvaćaju koštanu srž (popuarni „Bone marrow day“) naglasak se uvijek stavlja na nužnost kliničkih podataka i kliničko-patološku korelaciju pri postavljanju dijagnoze, no ovaj kliničko-patološki pristup sve je više potisnut molekularnom dijagnostikom kako u dijagnostičke tako i u terapijske i prognostičke svrhe pogotovo u dijagnostici akutnih leukemija. Rezultati molekularnog testiranja pokazali su se korisnima jer se njima mogu objasniti poteškoće u morfološkoj klasifikaciji hematoloških neoplazmi. Među ovogodišnjim temama posebno bih istaknula predavanja koja su se bavila izazovnom temom reaktivnih i terapijski izazvanih promjene koštane srži što je čest dijagnostički izazov za patologa. Pogotovo ako klinički podaci izostanu.



Među predavanjima bilo je nekoliko predavanja o mijeloidnim novotvorinama karakteriziranim kumulativnim genetskim promjenama ali još uvijek bez jasne poveznice s dijagnostičkom ili terapijskom koristi.

Iako se radi o Europskom društvu koje svoje sastanke organizira u Europi, na sastancima obično bude više patologa iz drugih dijelova svijeta. Najbrojniji su bili Amerikanci, zatim Talijani pa Britanci. Ove je godine na sastanku bilo 900 sudionika iz 71 zemlje. Bilo je 130 predavanja od kojih su redovito najfascinantnija ona o novostima u molekularnoj dijagnostici no najposjećenije su ipak radionice („workshops“) na kojima je ove godine prikazan 451 zanimljiv i teško rješiv slučaj. Svaki patolog voli vidjeti da nije jedini koji ima dijagnostički teške slučajeve. Bolje je učiti na tuđim greškama.



Svi predavači redovito naglašavaju nužnost interdisciplinarnog pristupa dijagnostici hematoloških bolesti, ne samo zloćudnih nego, vrlo često, i reaktivnih s naglaskom na primjenu molekularnih metoda. Predavanja također usmjeravaju i inspiriraju nova istraživanja ali i ističu nove probleme kako u dijagnostici tako i u terapiji čime se stvara tematska podloga za novi sastanak.

## 7. Međunarodni simpozij o kroničnoj bolesti presatka protiv primatelja u Vancouveru, listopad 2024.

### Dražen Pulanić

Zavod za hematologiju, KBC Zagreb  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

U Vancouveru u Kanadi je 16. i 17. listopada 2024. godine održan 7. Međunarodni simpozij o kroničnoj bolesti presatka protiv primatelja (cGvHD), s više od 220 sudionika iz različitih dijelova svijeta (SAD, Kanada, Europa, Japan, Kina, Australija).

Ovo je bio prvi takav sastanak održan izvan Hrvatske. Prethodno je održano šest vrlo uspješnih međunarodnih simpozija o kroničnom GvHD-u u Zagrebu (2013., 2015., 2016. i 2018. godine uživo, 5. cGvHD simpozij 2021. virtualno *online*, s obzirom na tadašnju COVID-19 pandemiju, te ponovno uživo/hibridni sastanak 2023. godine).

Ovaj 7. Međunarodni simpozij o kroničnom GvHD-u u Kanadi održan je s idejom da se daljnji sastanci održavaju izmjenično između Hrvatske i sjeverne Amerike (SAD/Kanada).

Najveći teret organizacije 7. Međunarodnog simpozija o cGvHD podnijeli su kanadski organizatori prof. dr. Kirk Schultz iz Vancouvera, prof. dr. Sylvie Lachance iz Montreala i dr. sc. Stephanie Maier sa suradnicima iz kanadskog Cell Therapy Transplant Canada. U Organizacijskom odboru simpozija bilo je više međunarodnih stručnjaka na čelu s prof. dr. Stevenom Živkom Pavletićem iz američkog NCI/NIH (prof. dr. Stephanie Lee (Seattle, SAD), prof. dr. Daniel Wolff (Regensburg, Njemačka), prof. dr. Hildegard Greinix (Graz, Austrija)). S hrvatske strane u Organizacijskom odboru bili su prof. dr. Dražen Pulanić, prof. dr. Radovan Vrhovac i dr. sc. Lana Desnica iz KBC Zagreb (Slika 1.).

**Slika 1. Članovi Organizacijskog odbora 7. cGvHD simpozija u Vancouveru (slijeva) prof. dr. S.Ž. Pavletić (SAD), dr. sc. L. Desnica (Hrvatska), prof. dr. S. Lee (SAD), prof. dr. K. Schultz (Kanada), prof. dr. S. Lachance (Kanada), prof. dr. D. Pulanić (Hrvatska), dr. sc. S. Maier (Kanada), prof. dr. D. Wolff (Njemačka).**



Kao kuriozitet je za istaknuti da je premijer Kanade Justin P.J. Trudeau u svojem pozdravnom uvodniku za simpozij na engleskom i francuskom jeziku istaknuo i zahvalio Krohemu (Slika 2.), a isto je učinio i gradonačelnik Vancouvera Ken Sim.

**Slika 2. Uvodni pozdravi dobrodošlice premijera Kanade.**





Simpozij je trajao dva intenzivno popunjena dana. Prvi dan započeo je sekcijom o novostima iz biologije kroničnog GvHD-a koju su moderirali dr. Desnica i prof. Wolff,

**Slika 3. Dr. sc. Lana Desnica, prof. dr. Daniel Wolff i prof. dr. Kirk Schultz.**



nakon čega je slijedilo nekoliko odličnih sekcija vezanih uz teme koje su obrađivane u posljednjem NIH konsenzusu o cGvHD-u – o etiologiji, ranoj dijagnostici, prevenciji, preemtivnoj terapiji i terapiji cGvHD-a, atipičnim manifestacijama i visoko morbiditetnim oblicima te bolesti, u čemu je sudjelovalo niz najuglednijih eksperata. Zasebni dio bio je posvećen procjeni kliničkih manifestacija cGvHD-a, plućnom cGvHD-u i multidisciplinarnom pristupu atipičnom cGvHD-u. Nakon toga slijedio je dio o inovativnom dizajniranju kliničkih studija u kojem je sudjelovala s predavanjem o novoj europskoj regulaciji kliničkih studija i prof. dr. Iveta Merčep iz KBC Zagreb.

**Slika 4. Hrvatski sudionici 7. cGvHD simpozija u Vancouveru: prof. dr. D. Pulanić, dr. sc. L. Desnica, prof. dr. I. Merčep, prof. dr. S.Ž. Pavletić, prof. dr. I. Pusić**



Drugog dana simpozija, u ranim jutarnjim satima program je nastavljen odličnim predavanjima o očnom, oralnom i kožnom cGvHD-u. Slijedio je dio o alternativnoj staničnoj terapiji za cGvHD, pa dio posvećen bolesnicima i njihovom pogledu na tu glavnu kasnu komplikaciju nakon alogenične transplantacije matičnih krvotvornih stanica, te alternativnim metodama za procjenu cGvHD-a poput umjetne inteligencije. Nakon toga održana je izvrsna debata između prof. Sarantopoulos (SAD) i prof. Hill (SAD) o tome treba li nam cGVHD za postizanje GvL koju su moderirali prof. Pulanić i prof. Schultz.

Završni dio bio je prikaz najboljih usmenih prezentacija koji su moderirali dr. Desnica i prof. Pulanić, koji su na kraju podijelili i nagrade autorima najboljih usmenih i poster prezentacija.

Simpozij su zatvorili prof. Schultz i prof. Pulanić, najavljujući planove za 8. Međunarodni simpozij o kroničnom GvHD-u koji će se ponovno održati u Hrvatskoj u svibnju 2026. godine.

**Slika 5. prof. dr. Pulanić zatvara 7. cGvHD simpozij u Vancouveru i najavljuje novi 8. cGvHD simpozij u Hrvatskoj u 2026. godini.**



## Kalendar predstojećih hematoloških skupova

Priredila: doc. dr. sc. Vlatka Periša, dr. med.

- **Jesenski sastanak KROHEM-a**, od 07.11. do 09.11.2024., Vinkovci (Hrvatska)
- **BloodHIT 2024**, od 14.11. do 15.11.2024., Dublin (Irska)
- **EHA-BMSH Balkan Hematology Tutorial**, od 14.11. do 15.11.2024., Varna (Bugarska)
- **RCPATH & SHOT Advances in Transfusion Symposium**, od 20.11. do 21.11.2024., Virtualno
- **ESH-EBMT-EHA 3rd Translational Research Conference on Bone Marrow Failure and Leukaemia Predisposition Syndromes**, od 15.11. do 17.11.2024., Pariz (Francuska)
- **Annual Hematology Meeting: Preceding the 66th ASH Annual Meeting and Exposition**. 06.12.2024., San Diego (SAD)
- **American Society of Hematology (ASH) 2024 Meeting** od 07.12 do 10.12.2024., San Diego (SAD)
- **EDQM Blood Conference: Innovation in Blood Establishment Processes**, od 14.01. do 15.01.2025., Strasbourg (Francuska)
- **Neoplastic Hematopathology Tutorial**, od 20.01. do 24.01.2025., Phoenix (SAD)
- **BSHT NVTH Joint ASM**, od 22.01. do 24.01.2025., Newcastle (Ujedinjeno Kraljestvo)
- **EAHAD 2025**, od 04.02. do 07.02.2025., Milan (Italija)
- **7<sup>th</sup> European CAR T-cell Meeting**, od 06.02. do 08.02.2025., Strasbourg (Francuska)
- **5<sup>th</sup> Scientific Workshop: the Haematological Tumour Microenvironment and its Therapeutic Targeting**, od 16.02 do 18.02.2025., London (Ujedinjeno Kraljestvo)
- **Educational Workshop Multiple Myeloma**, od 28.02. do 01.03.2025., Johannesburg (Južnoafrička Republika)
- **4<sup>th</sup> How to Diagnose and Treat: CML/MPN** od 07.03. do 09.03.2025., Beč (Austrija)
- **Sastanak Radne skupine za multipli mijelom**, ožujak 2025.
- **4<sup>th</sup> Translational Research Conference: Pathophysiology and Clinical Advances in Sickle Cell Disease and Thalassemia**, od 14.03. do 16.03.2025., Dublin (Irska)
- **EHA Research Conference 2025**, od 17.03. do 20.03.2025., Malaga (Španjolska)
- **6<sup>th</sup> Immune Effector Cell Therapies in Multiple Myeloma Workshop**, od 28.03. do 29.03.2025., Boston (SAD)
- **The 51<sup>st</sup> Annual Meeting of the EBMT**, od 30.03. do 02.04.2025., Firenza (Italija)
- **EHA-HKSH Hematology Tutorial**, od 05.04. do 06.04.2025., Hong Kong (Kina)
- **XVII EBMWG 2025 Workshop**, od 10.04. do 12.04.2025., Salzburg (Austrija)
- **6<sup>th</sup> EMN**, od 10.04. do 12.04.2025., Atena (Grčka)
- **18<sup>th</sup> International Workshop on Multiple Myeloma**, od 10.04. do 13.04.2025., Miami (SAD)
- **EHA-SWG Scientific Meeting on Recent Advances in the Pathogenesis and Treatment of Secondary Acute Myeloid Leukemias**, od 25.04. do 26.04.2025., Berlin (Njemačka)
- **2. sastanak Radne skupine za hemostazu i trombozu**, travanj 2025.

- **Proljetni sastanak KROHEM-a 5 mj 2025.**
- **5<sup>th</sup> How to Diagnose and Treat: Multiple Myeloma**, od 03.05. do 05.05.2025., Beč (Austrija)
- **10<sup>th</sup> International Congress on Leukemia Lymphoma Myeloma (ICLLM)**, 10.05.2025., Istanbul (Turska)
- **The 18<sup>th</sup> International Congress on Myelodysplastic Syndromes (MDS 2025)**, od 07.05. do 10.05.2025., Rotterdam (Nizozemska)
- **Network of Experts on the Molecular Diagnosis of Myeloproliferative Neoplasm (MPN) and MPN-related congenital diseases (MPNr)**, od 14.05. do 16.05.2025., St.Gallen (Švicarska)
- **4<sup>th</sup> Translational Research Conference: Acute Lymphoblastic Leukaemia**, od 22.05 do 24.05.2025., Dublin (Irska)
- **ISBT 2025 International society of blood transfusion congress** od 01.06. do 04.06.2025., Milan (Italija)
- **European Hematology Association (EHA) 2025** od 12.06. do 15.06.2025., Milano (Italija)
- **ICML 2025** od 17.06. do 21.06.2025., Lugano (Švicarska)
- **ISTH 2025 Congress** od 21.06. do 25.06.2025, Washington (SAD)
- **34<sup>st</sup> Annual Mayo Clinic Hematology/Oncology Reviews 2025** od 31.07. do 02.08.2025, Amelia Island (SAD)
- **5. sastanak Radne skupine za benigne hematološke bolesti Krohema**, rujan 2025.
- **XXI iwCLL**, od 12.09. do 15.09.2025., Krakov (Poljska).

## **Pravilnik o postupku provođenja, objavljivanja rezultata i autorstvu radova**

### **I. OPĆE ODREDBE**

#### **Članak 1.**

(1) Znanstveni radovi KROHEM-a obuhvaćaju: publikacije studija KROHEM-a (uključujući kliničko terapijske pokuse, dijagnostičke pokuse, epidemiološke i opservacijske studije), publikacije translacijskih istraživanja te ostale znanstvene publikacije.

(2) Prema formatu znanstvene publikacije mogu biti tiskani radovi u časopisima, autorizirani radovi/prezentacije u elektroničkim medijima te kongresna priopćenja (sažeci).

#### **Članak 2.**

(1) Sve publikacije KROHEM-a, usmeno i pismeno, imat će "KROHEM" u naslovu ili autorstvu osim ako organizator skupa to izričito ne brani.

(2) Sve informacije koje se generiraju od strane studija su puno vlasništvo KROHEM-a, a autori imaju pravo slobodnog korištenja, financijskog i intelektualnog, osim ako nije drugačije navedeno u ugovorima sa sponzorima.

#### **Članak 3.**

(1) U slučaju nesuglasica o pitanjima reguliranim ovim pravilnikom, konačnu odluku donosi Upravni odbor KROHEM-a.

### **II. STUDIJE KROHEM-a**

#### **Članak 4.**

(1) Svaki član ili članovi imaju pravo predložiti studiju KROHEM-a voditelju odgovarajuće radne skupine koji će prijedlog proslijediti članovima radne skupine. Kod predlaganja studije koristit će se Obrazac za prijedlog istraživanja iz Priloga 1. Pravilnika. Članovi radne skupine mogu dati prijedloge o unaprjeđivanju projekta kojeg predlagač može, ali ne mora prihvatiti. Ukoliko radna skupina prihvati prijedlog studije, voditelj radne skupine će imenovati predlagatelja za koordinatora studije. Iznimno, ukoliko predlagatelj to ne želi ili tijekom izvođenja studije odustane ili ne bude više u mogućnosti obavljati tu dužnost, voditelj radne skupine imenovat će drugog koordinatora. Ukoliko studiju predlaže više članova, oni mogu zajedno biti koordinatori ili se mogu dogovoriti da tu dužnost obavlja jedan od njih i o tome obavijestiti voditelja radne skupine.

(2) Voditelj radne skupine će o studiji obavijestiti

Upravni odbor KROHEM-a i tajništvo KROHEM-a. KROHEM se obvezuje sve članove radne skupine, i pojedince koji nisu članovi radne skupine, ali rade u nezastupljenim centrima, pozvati na suradnju na predloženoj studiji. Pozvani suradnici mogu i ne moraju sudjelovati u studiji. Ukoliko član radne skupine iz pojedinog hematološkog centra nije sklon sudjelovati u studiji, KROHEM ima pravo ponuditi drugom zaposleniku iste ustanove mogućnost sudjelovanja.

#### **Članak 5.**

(1) Koordinator studije je odgovoran za dizajniranje i planiranje studije, pribavljanje dopusnice etičkog povjerenstva u vlastitoj instituciji, planiranje radova koji bi proizašli iz navedenog istraživanja, pisanje ili delegiranje pisanja pojedinog rada te redovito izvještavanje radne skupine / upravnog odbora o napretku istraživanja i napretku procesa publiciranja radova.

(2) Obveze KROHEM-a su organizacijski, administrativno i financijski podržati prihvaćenu studiju, odnosno aspekte studije za koje je inicijalno traženo financiranje (reagensi, troškovi statističke i druge obrade podataka, troškovi publiciranja...).

(3) Obveze istraživača su pribavljanje dopusnice etičkog povjerenstva u vlastitoj instituciji, te studiju provoditi u skladu s etičkim načelima, svim važećim zakonima i propisima i protokolom studije vodeći računa da pri tome ne budu ugroženi interesi uključenih ispitanika.

### **III. POSTUPAK PUBLICIRANJA STUDIJA KROHEM-a**

#### **Članak 6.**

(1) Nacrt završnog rada trebao bi biti izrađen od strane koordinatora studije u roku od 6 mjeseci od primitka konačnog izvješća studije. Ako se taj rok ne poštuje, Upravni odbor KROHEM-a na prijedlog voditelja radne skupine može imenovati drugog koordinatora studije.

#### **Članak 7.**

(1) Djelomične analize podataka i radovi o posebnim aspektima studije se bez suglasnosti koordinatora studije ne smiju objavljivati prije nego što KROHEM objavi ukupni skup podataka. Nakon što

budu objavljeni glavni rezultati, o namjeri objavljivanja takvih radova članovi su dužni obavijestiti koordinatora studije, voditelja radne skupine u sklopu koje se planiraju provesti dodatne analize i voditelja radne skupine pod čijim pokroviteljstvom je provedena glavna studija. Ukoliko je koordinator suglasan, daljnji postupak se provodi u skladu sa člankom 4. Ukoliko koordinator uskrati suglasnost, voditelj radne skupine će organizirati sastanak predlagatelja i svih sudionika studije radi pokušaja postizanja dogovora. Ukoliko se dogovor ne postigne, voditelj radne skupine će o rezultatima sastanka upoznati Upravni odbor KROHEM-a koji donosi konačnu odluku.

(2) Iznimno, ukoliko rezultati nisu objavljeni više od 6 mjeseci od završetka studije, član ili skupina članova ima pravo objaviti svoje rezultate s tim da Upravni odbor, voditelja radne skupine i koordinatora studije moraju o svojoj namjeri obavijestiti 30 dana ranije.

### **Članak 8.**

(1) Sve prihvaćene publikacije moraju biti poslane tajništvu KROHEM-a koje ih je dužno pohraniti u pismohranu.

## **III. AUTORSTVO**

### **Članak 9.**

Autorstvo na glavnom radu uključuje :

- (1) Koordinatora studije (obično prvi autor).
- (2) Voditelja radne skupine koja je pokrovitelj studije (obično zadnji autor).
- (3) Predstavnike ustanova koje su uključile 5% ili više ispitanika u studiju.
- (4) Druge osobe koje ispunjavaju kriterije za autorstvo temeljem ICMJE kriterija.
- (5) Predstavnike ustanova koje su uključile manje od 5% bolesnika ako njihov ukupni doprinos, zajedno s ranije objavljenim radovima na tu temu u kojima nisu bili koautori, iznosi 5% ili više, odnosno ako po mišljenju koordinatora studije to zaslužuju.
- (6) Točan broj i redosljed autora utvrđuje koordinator studije prema broju uključenih bolesnika te pravodobnosti i kvaliteti dostavljenih podataka.

### **Članak 10.**

Autorstvo na dodatnom radu uključuje:

- (1) Koordinatora dodatne studije (obično prvi autor)
- (2) Koordinatora glavne studije (obično drugi autor)

(3) Voditelja radne skupine koja je pokrovitelj dodatne analize (obično zadnji autor)

(4) Predstavnike ustanova koje su uključile 10% ili više ispitanika u studiju.

(5) Druge osobe koje ispunjavaju kriterije za autorstvo temeljem ICMJE kriterija.

(6) Predstavnike ustanova koje su uključile manje od 10% bolesnika ako njihov ukupni doprinos, zajedno s ranije objavljenim radovima na tu temu u kojima nisu bili koautori, iznosi 10% ili više, odnosno ako po mišljenju koordinatora studije to zaslužuju.

(7) Točan broj i redosljed autora utvrđuje koordinator studije prema broju uključenih bolesnika te pravodobnosti i kvaliteti dostavljenih podataka.

### **Članak 11.**

(1) Ukoliko studiju zajedno provodi više radnih skupina KROHEM-a, koordinatori studije i voditelji radnih skupina će se nastojati postići dogovor o redosljedu i popisu autora u skladu sa člancima 9. i 10. ovog pravilnika. Ukoliko to ne uspiju, obavijestit će o tome Upravni odbor KROHEM-a koji će donijeti konačnu odluku.

### **Članak 12.**

(1) Radove moraju pregledati i odobriti svi koautori prije podnošenja prijave za objavljivanje.

(2) U bilješci moraju biti spomenuti svi suradni centri s odgovornim osobama koji su sudjelovali u studiji, a nisu koautori.

## **IV. PUBLIKACIJE RADOVA U SURADNJI S DRUGIM KOOPERATIVNIM GRUPAMA**

### **Članak 13.**

(1) U slučaju da se studija provodi u suradnji s drugim nacionalnim ili međunarodnim kooperativnim grupama i subjektima, dogovorit će se način određivanja autorstva i ostale aspekte publikacije u skladu sa sporazumom predstavnika grupa koje surađuju, uzevši u obzir ovaj Pravilnik kao i odgovarajuće dokumente grupe s kojom se surađuje.

(2) Dijeljenje podataka prikupljenih KROHEM-ovom studijom s drugim kooperativnim grupama, pravnim ili fizičkim osobama moraju odobriti koordinator studije, voditelj radne skupine i Upravni odbor KROHEM-a vodeći računa o znanstvenostručnim, etičkim, pravnim i financijskim aspektima suradnje.

## V. OSTALE PUBLIKACIJE

### Članak 14.

(1) Smjernice, postupnici i preporuke KROHEM-a se u načelu stvaraju u dogovoru s Hrvatskim hematološkim društvom Hrvatskog liječničkog zbora i u tom slučaju trebaju u naslovu imati naziv obje udruge.

(2) Autore takvih publikacija određuje voditelj radne skupine u konzultaciji s članovima radne skupine.

(3) Ukoliko se takve publikacije odnose na teme koje su zajedničke za više radnih skupina, autore će na prijedlog voditelja radnih skupina odrediti Upravni odbor KROHEM-a.

(4) Smjernice i postupnike moraju odobriti članovi odgovarajućih radnih skupina. Preporuke moraju odobriti članovi radnih skupina ili Upravni odbor ili Predsjednik KROHEM-a.

## VI. STUPANJE NA SNAGU

### Članak 15.

Ovaj Pravilnik stupa na snagu danom donošenja 10.5.2024.

### Prilog 1. Obrazac za prijedlog istraživanja

<b>Krohem</b>		Obrazac za prijedlog istraživanja
<b>Naziv istraživanja:</b>		
_____		
<b>Odobreno od:</b> _____ [Ime radne skupine]		
<b>Glavni istraživač /koordinator studije</b>		
Datum odobrenja (dd/mm/yyyy): ___/___/___		
Ime i prezime:		
Potpis:		
<b>Voditelj/i radne/ih skupine/a</b>		
Datum odobrenja (dd/mm/yyyy): ___/___/___		
Ime i prezime:		
Potpis:		
Ime i prezime:		
Potpis:		
<p>Prije pokretanja studije, glavni istraživač/koordinator studije osigurat će da svi uključeni centri imaju pribavljene etičke dopusnice za provođenje gore navedene studije prije nego započne prikupljanje studijskih podataka.</p>		
[Radna skupina]	Stranica 1 od 5	

<b>1. Pozadina istraživanja</b>
<i>(Navedite zašto mislite da je potrebno provesti ovu studiju)</i>
_____
<b>2. Glavni cilj i istraživačka pitanja</b>
<b>2.a. Glavni cilj istraživanja</b>
_____
<b>2.b. Sekundarni ciljevi istraživanja</b>
_____
<b>3. Dizajn studije</b>
<i>Uključite: Predložena vrsta studije (anketa/retrospektivna/neintervencijska prospektivna, na temelju registra/prikupljanje dodatnih podataka) U slučaju neintervencijske prospektivne studije, procjena trajanja uključivanja)</i>
_____
<b>4. Studijska populacija</b>
<i>(Precizno opišite ispitivanu populaciju s dijagnozom, vrstom liječenja, dobi, analiziranim razdobljem i sl)</i>
<b>4.a. Ključni kriteriji</b>
_____
<b>4.b. Isključni kriteriji</b>
_____
<b>4.c. Veličina studijske populacije</b>
_____
[Radna skupina]
Stranica 2 od 5

## 5. Prikupljanje podataka i statistička analiza

### 5.a. Studijske varijable

(Navedite sve varijable koje treba prikupiti i u kojim vremenskim točkama (npr. kod dijagnoze, kod liječenja, nakon jednogodišnjeg praćenja). Navedite koje su varijable potrebne samo u opisne svrhe, a koje treba uzeti u obzir u analizi ishoda. Također navedite koje se varijable smatraju "ključnim varijablama", koje su bitne za glavni cilj studije i koje je neophodno dobiti za svaki centar/pacijenta)

### 5.b. Ishod(i)

Primjer ishoda: Preživljenje bez progresije nakon dvije godine od početka intervencije (liječenja)

## 6. Izvori financiranja studije

Navedite sve predviđene izvore financiranja ove studije (uključujući KROHEM) uz obveznu napomenu je li istraživanje direktno sponzorirano od strane farmaceutske industrije.

## 7. Reference

Navedite maksimalno 10 referenci.

[Radna skupina

Stranica 3 od 5

Dodatak 1.1

### Potpisna lista sudionika:

IME CENTRA: \_\_\_\_\_

Lokalni kordinator: \_\_\_\_\_

Ime i prezime: \_\_\_\_\_

Svojim potpisom sudionici potvrđuju da su pročitali protokol studije, pristaju sudjelovati u studiji i da su obvezni ishoditi dopusnicu etičkog povjerenstva svoje institucije. Potpisom se ujedno daje suglasnost za prijenos prava vlasništva nad prikupljenim podacima na KroHem, sukladno pravilniku o postupku provođenja, objavljivanja rezultata i autorstvu radova KroHem-a.

Potpis: \_\_\_\_\_

Datum: \_\_\_\_\_

[Radna skupina

Stranica 5 od 5

## Dodatak 1.0

### Potpisna lista sudionika

Centar	Kordinator

[Radna skupina

Stranica 4 od 5











