

# Aplastična anemija u odraslih osoba

---

Hodonj, Matea

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:702799>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-02**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Matea Hodonj**

**Aplastična anemija u odraslih osoba**

**Diplomski rad**



**Zagreb, 2021.**

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Zagreb Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom doc. prim. dr. sc. Dražena Pulanića, dr. med., znanstvenog savjetnika, i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2020./2021.

## **POPIS I OBJAŠNJENJA KRATICA KORIŠTENIH U RADU**

AA – aplastična anemija

ANC – apsolutni broj neutrofila (engl. absolute neutrophil count)

ATG – antitimocitni globulin

CVM – citomegalovirus

DC – disceratosi congenita

EBV – Epstein-Barr virus

ELT – eltrombopag

FA - Fanconijeva anemija

Fas/FasL – stimulacijski fragment apoptoze/ligand stimulacijskog fragmenta apoptoze (engl. apoptosis stimulating fragment/apoptosis stimulating fragment ligand)

GVHD – bolest presatka protiv primatelja (engl. graft-versus-host disease)

Hb – hemoglobin

HIV – virus humane imunodeficijencije (engl. human immunodeficiency virus)

HLA – antigen humanih leukocita (engl. human leukocyte antigen)

HSC – krvotvorne matične stanice (engl. hematopoietic stem cell)

HSCT – alogenična transplantacija matičnih stanica (engl. allogeneic stem cell transplantation)

INF- $\gamma$  – interferon  $\gamma$

ITP – imunosna trombocitopenija

MDS – mijelodisplastični sindrom

MPL – receptor za trombopoetin

NK – prirodno-ubilačke stanice (engl. natural killer)

NSAA – ne-teška aplastična anemija (engl. non-severe aplastic anemia)

PD-L1 – ligand programirane smrti (engl. programmed death ligand)

PIG-A – podjedinica A fosfatidilinozitol N-acetilglukozaminiltransferaze  
(engl. phosphatidylinositol N-acetylglucosaminyltransferase subunit A)

PNH – paroksizmalna noćna hemoglobinurija

SAA – teška aplastična anemija (engl. severe aplastic anemia)

TBI – zračenje cijelog tijela (engl. total body irradiation)

TGF- $\beta$  – transformirajući faktor rasta  $\beta$  (engl. transforming growth factor  $\beta$ )

TNF- $\alpha$  - tumorski faktor nekroze (engl. tumor necrosis factor  $\alpha$ )

VSAA – vrlo teška aplastična anemija (engl. very severe aplastic anemia)

# Sadržaj

Sažetak

Summary

<b>1. Aplastična anemija - definicija .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Epidemiologija.....</b>	<b>2</b>
<b>3. Patogeneza .....</b>	<b>3</b>
<b>4. Klinička slika .....</b>	<b>5</b>
<b>5. Dijagnostika.....</b>	<b>6</b>
5.1. Anamneza i fizikalni pregled .....	6
5.2. Kompletna krvna slika.....	7
5.3. Biopsija kosti i dodatni dijagnostički testovi i postupci .....	8
5.4. Diferencijalna dijagnoza .....	9
<b>6. Liječenje.....</b>	<b>11</b>
6.1. Potporno liječenje .....	11
6.2. Liječenje alogeničnom transplantacijom koštane srži .....	12
6.3. Liječenje imunosupresivnom terapijom .....	14
6.4. Eltrombopag u liječenju aplastične anemije.....	16
<b>7. Zaključak .....</b>	<b>19</b>
<b>8. Zahvale.....</b>	<b>20</b>
<b>9. Popis literature .....</b>	<b>21</b>
<b>10. Životopis .....</b>	<b>23</b>

# Sažetak

## Aplastična anemija u odraslih osoba

Matea Hodonj

Aplastična anemija (AA) je bolest multipotentnih matičnih krvotvornih stanica koštane srži, a očituje se hipocelularnošću ili acelularnošću koštane srži. U perifernoj krvi nastaje anemija, granulocitopenija i trombocitopenija. Pojavljuje se u 0,002-0,005% stanovnika godišnje. Dijeli se na nasljednu i stečenu, koja se dalje dijeli na idiopatsku i sekundarnu (nastaje kao posljedica raznih uzroka poput infekcija, lijekova, zračenja ili toksina). Dijagnoza se postavlja na temelju biopsije koštane srži, a težina se procjenjuje pomoću Camitta kriterija određenih prema laboratorijskim nalazima periferne krvi – broju eritrocita, retikulocita, leukocita i trombocita. Etiopatogeneza aplastične anemije temelji se na autoimunosnoj podlozi posredovanoj limfocitima T i njihovim limfokinima koji uzrokuju uništenje hematopoetskih matičnih stanica s ukupnim smanjenjem hematopoeze. Najčešći klinički znakovi koji će ukazivati na razvoj ove bolesti su simptomi anemije, olakšano stvaranje hematoma i produljena krvarenja, a u nekih bolesnika učestale i teške infekcije.

U liječenju aplastične anemije upotrebljavaju se različite metode. Najvažnija i najbolja od njih je alogenična transplantacija koštane srži srodnog ili nesrodnog donora koja omogućava ponovnu uspostavu hematopoeze u bolesnika podobnih za takav oblik liječenja. Drugi način liječenja je imunosupresivna terapija antitimocitnim globulinom i ciklosporin, a posljednjih godina sve više se koristi eltrombopag, agonist trombopoetinskih receptora. Uz navedenu terapiju, iznimno je važno potporno transfuzijsko liječenje teške anemije i trombocitopenije te antimikrobna profilaksa i kelatori željeza u pojedinih bolesnika.

Ključne riječi: aplastična anemija, biopsija koštane srži, transplantacija krvotvornih matičnih stanica, imunosupresivna terapija, eltrombopag

# Summary

## Aplastic anemia in adults

Matea Hodonj

Aplastic anemia (AA) is a disease of multipotent hematopoietic stem cells which causes hypocellular or acellular bone marrow. In the peripheral blood, it gives a picture of anemia, granulocytopenia and thrombocytopenia. The occurrence of this condition is 0.002 – 0.005% of inhabitants annually. It is divided into inherited and acquired, which is further divided as idiopathic or secondary (which develops as a consequence of various infections, drugs, radiations and toxins). It is diagnosed with bone marrow biopsy but the severity of the disease is determined by Camitta criteria based on peripheral blood sample results such as erythrocyte, reticulocyte, leukocyte and thrombocyte count. Etiopathogenesis of aplastic anemia is based on autoimmune basis mediated by T lymphocytes and the lymphokines they secrete which cause the destruction of hematopoietic stem cells with the complete reduction of hematopoiesis. Most common clinical indications that will point to the development of this disease are symptoms of anemia, easy bruising, prolonged bleeding and in some patients frequent and severe infections.

There are different methods to treat aplastic anemia. The most important and the best one is allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from either a related or an unrelated donor which enables restoration of hematopoiesis in patients that are suitable for this treatment option. Along the transplantation, a method of immunosuppressive therapy has been developed with drugs such as antithymocyte globulin and cyclosporine, and in recent years eltrombopag, a thrombopoietin receptor agonist, is used in treatment of AA. While on immunosuppressive immunotherapy, supportive therapy with irradiated doses of erythrocytes and thrombocytes is extremely important for patients with severe anemias and thrombocytopenias.

Key words: aplastic anemia, bone marrow biopsy, hematopoietic stem cell transplantation, immunosuppressive therapy, eltrombopag

# 1. Aplastična anemija - definicija

Aplastična anemija (AA) je bolest koja zahvaća multipotentne matične krvotvorne stanice u koštanoj srži, zbog čega nastaje hipocelularna ili acelularna koštana srž, a u perifernoj krvi anemija sa sniženim retikulocitima, granulocitopenija, monocitopenija i trombocitopenija (1). Rijetka je i potencijalno smrtonosna bolest.

Složenica je nastala iz grčkog jezika: a- - „ne“ i -plasis – „stvaranje oblika“ te a- „ne“ i -emia (lat.)/(h)aimia (grč.) što znači „krv“. Može se pojaviti kao stečena AA koju dijelimo na idiopatsku i sekundarnu, te kao nasljedna AA. Dijagnoza se postavlja biopsijom koštane srži koja pokazuje hipocelularnu ili acelularnu koštanu srž, te na temelju nekoliko kriterija iz periferne krvne slike, od kojih moraju biti prisutna barem dva: koncentracija hemoglobina (Hb) <100 g/L, broj trombocita <50 x 10<sup>9</sup>/L i apsolutni broj neutrofila (engl. ANC, absolute neutrophil count) < 1,5 x 10<sup>9</sup>/L. Aplastična anemija se može pojaviti u nekoliko stupnjeva koji se određuju prema Camitta kriterijima. Dijelimo ju na *tešku* (engl. Severe aplastic anemia, SAA), *vrlo tešku* i *ne-tešku* AA (1).



## 2. Epidemiologija

Aplastična anemija je rijetka bolest koja pogađa 2 do 5 osoba na milijun stanovnika godišnje (1). Češće se dijagnosticira u muškaraca nego u žena. Medijan starosti oboljelih muškaraca je 40, a oboljelih žena 59 godina. Starosna učestalost je bifazična, bolest se pojavljuje najviše u dobi od 15 do 24 godine i kod starijih od 65 godina (2).

Aplastična anemija može biti nasljedna i stečena. Naslijeđena AA može biti povezana s jednom ili više somatskih abnormalnosti. Klinički se najčešće očituje u djetinjstvu, ali prvi simptomi se mogu pojaviti i u odrasloj dobi. Povezuje se s dva sindroma: Fanconijevom anemijom (FA) i disceratosi congenita (DC) koji mogu uzrokovati AA kao svoju inicijalnu prezentaciju. Važno je prepoznati da se radi o nasljednoj AA ukoliko se pojavi i u odrasloj dobi (3).

Stečena AA postoji u dva oblika: idiopatska i sekundarna. Sekundarna AA može biti uzrokovana lijekovima, trudnoćom, zračenjem i toksinima poput benzena ili arsena. U 70-80% bolesnika ne možemo odrediti uzrok stoga najčešće govorimo o idiopatskom obliku.

### 3. Patogeneza

Krvotvorne matične stanice (engl. hematopoietic stem cell, HSC) su pluripotentne stanice s mogućnošću samoobnove i diferenciraju se u nekoliko krvotvornih linija (mijeloidna i limfoidna). Vjeruje se da je AA karakterizirana upravo gubitkom ili disfunkcijom pluripotentnih stanica.

Kliničkim ispitivanjima zaključeno je da je stečena AA bolest s autoimunom podlogom koja je posredovana abnormalnim aktiviranim limfocitima-T i njihovim limfokinima. Dokazano je da je broj CD8<sup>+</sup> citotoksičnih limfocita-T povećan kod pacijenata s dijagnozom AA, u krvi i u koštanoj srži (4).

U AA dolazi do klonalne proliferacije CD8<sup>+</sup> limfocita i do povećane sekrecije proupalnih faktora (INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ). Ovim procesom je inducirana pojačana apoptoza CD34<sup>+</sup> stanica putem Fas/FasL (engl. apoptosis stimulating fragment/apoptosis stimulating fragment ligand) interakcije. Uz CD8<sup>+</sup> limfocite, CD4<sup>+</sup> limfociti se diferenciraju u Th1 stanice što dovodi do povišenih razina INF- $\gamma$ , u Th2 stanice (izlučivanje IL-4), Th17 stanice (izlučivanje IL-17) i regulatorne T stanice. Kod bolesnika s AA su pronađene značajno više razine INF- $\gamma$  i TNF- $\alpha$ , u usporedbi sa zdravim pojedincima. INF- $\gamma$  je citokin koji djeluje kao negativni regulator proliferacije i preživljenja matičnih stanica i stanica prekursora. Može inhibirati razvoj limfocita B, eritrocita, eozinofila i neutrofila i inducirati pojačanu ekspresiju PD-L1 (engl. programmed death ligand) na limfocitima-T, NK (engl. natural killer) stanicama, makrofazima, mijeloidnim prekursorima i epitelnim stanicama koji vezanjem za PD-1 inducira apoptozu. U koštanoj srži potiče ekspresiju Fas na CD34<sup>+</sup> stanicama, što dovodi do uništenja hematopoetskih matičnih stanica. Smanjena je i proliferacija zajedničkih mijeloidnih progenitorskih stanica, granulocitnih progenitorskih stanica i

megakariocit-eritroidnih progenitorskih stanica. Zbog svega navedenog, smanjena je hematopoeza, a koštana srž aplastična (4).

Aplastična anemija se može razviti i kao sekundarna bolest. Radioterapija i kemoterapija, osim što ih koristimo za liječenje neoplazmi, oštećuju zdrave stanice, uključujući i matične stanice koštane srži. Takva AA može biti samo prolazna nuspojava liječenja. Izloženost toksinima poput pesticida, insekticida i benzena također može uzrokovati kliničku sliku aplastične anemije. Razni drugi lijekovi i autoimunosne bolesti mogu utjecati na koštanu srž. Virusne bolesti poput hepatitisa, Epstein-Barr virusa (EBV), citomegalovirusa (CMV), parvovirusa B19 i HIV-a (engl. human immunodeficiency virus) mogu uzrokovati sekundarni razvoj AA. Također, opisani su slučajevi AA i u trudnoći (1).

## 4. Klinička slika

Simptomi koji se pojavljuju u AA povezani su sa smanjenim stvaranjem krvotvornih stanica sve tri loze. Pacijenti se najčešće javljaju zbog simptoma anemije ili krvarenja, a rjeđe zbog infekcija.

Kliničkim pregledom mogu se uočiti znakovi anemije poput bljedoće i dispneje. Važno je pitati bolesnika je li primijetio manjak energije, umara li se više nego inače i osjeća li nedostatak daha dok hoda ili tokom tjelovježbe. Glavobolja i vrtoglavica također mogu biti jedni od znakova AA. Važno je obratiti pozornost i na znakove trombocitopenije. Bolesnici se mogu javiti zbog jakih epistaksi, krvarenja iz desni, ali i zbog krvi u stolici, urinu te drugih mukokutanih krvarenja. Rjeđe će se pojavljivati infekcije kao znakovi leukopenije.

## 5. Dijagnostika

### 5.1. Anamneza i fizikalni pregled

Anamneza je izuzetno važan dio svakog dijagnostičkog postupka. Njome se prikupljaju osobni podaci o bolesniku, obiteljska povijest bolesti i moguće nasljedne bolesti, osobna anamneza i informacije o funkcijama i navikama. S obzirom da se u AA nalazi aplazija ili hipoplazija koštane srži s manjkom mijeloidne i limfoidne loze, najvažnije je pitati bolesnika o simptomima koje je primijetio: petehijalna krvarenja po koži, masnice nakon minimalnog kontakta koje dugo ne prolaze, slabost, bljedoća sluznica, eventualne aritmije, produžena druga krvarenja, učestale infekcije. Aplastična anemija može biti nasljedna i stečena, pa je potrebno saznati o genetskim oboljenjima u obitelji poput FA i DC, izloženosti zračenju (u bolnici ili profesionalno), terapiji lijekovima i izloženosti toksinima (benzen) dok se tek rijetko razvija u toku trudnoće.

Temeljitim fizikalnim pregledom sprječavamo previd važnih znakova. Sastoji se od inspekcije palpacije, perkusije i auskultacije. Pristupanjem bolesniku stvara se prvi dojam o težini bolesti. Mora se obratiti pozornost na njegovu građu i držanje. Promatraju se ekstremiteti (boja, kapilarno punjenje, vlažnost, periferni puls), lice (boja kože i sluznica), vrat (povećani limfni čvorovi, karotidni puls), prsni koš (inspekcija, palpacija, perkusija, auskultacija pluća i srca), abdomen i radi se neurološki pregled. Neki od važnih znakova su nam petehijalna krvarenja, dugotrajna krvarenja nakon malih zahvata, bljedoća kože i sluznica, oslabljen ili nepravilan puls, dispneja.

Diferencijalno dijagnostički, potrebno je isključiti splenomegaliju, limfadenopatiju, neke malformacije skeleta i bolesti kože.

## 5.2. Kompletna krvna slika

Kompletna krvna slika određuje ukupan broj krvnih stanica, a referentni interval ovisi o nekoliko čimbenika: dobi, spolu i metodi određivanja. Određuje se ukupan broj eritrocita, retikulocita, leukocita i trombocita uz hemoglobin, hematokrit i diferencijalnu krvnu sliku.

U krvnoj slici bolesnika s aplastičnom anemijom uočit ćemo pancitopeniju. Eritrociti su normokromni i normocitni (mogu biti i makrocitni), ali im je smanjen broj, kao i retikulocitima. Hemoglobin je također snižen. Smanjen je ukupni broj leukocita i trombocita. U diferencijalnoj krvnoj slici, uočljiv je pad apsolutnog broja neutrofila (engl. absolute neutrophil count, ANC) (1).

Za dijagnozu aplastične anemije potrebno je zadovoljiti bar dva od tri kriterija: koncentracija hemoglobina niža od 100 g/L, broj trombocita manji od  $50 \times 10^9$  /L, broj neutrofila manji od  $1,5 \times 10^9$  /L. Po Camitta kriteriju postoji nekoliko stupnjeva težine AA: *teška* (engl. severe AA, SAA), *vrlo teška* (engl. very severe AA, VSAA) i *ne-teška* (engl. non-severe AA, NSAA). U *teškom* obliku bolesti (SAA), u kompletnoj krvnoj slici nalazi se broj neutrofila niži od  $0,5 \times 10^9$  /L, broj trombocita niži od  $20 \times 10^9$  /L i broj retikulocita manji od  $20 \times 10^9$  /L (3).

Ukoliko je neutrofila manje od  $0,2 \times 10^9$  /L, dijagnosticirat ćemo *vrlo tešku* AA (VSAA). U slučaju *ne-teške* AA (NSAA), neće biti zadovoljen nijedan od kriterija za SAA i VSAA (3).

### 5.3. Biopsija kosti i dodatni dijagnostički testovi i postupci

Uz kompletnu i diferencijalnu krvnu sliku, dijagnostički test kojim se potvrđuje dijagnoza AA je biopsija koštane srži s patohistološkom analizom, a uzorak se šalje i za citološku analizu (aspirat) kao i za protočnu citometriju, citogenetsku i molekularnu dijagnostiku radi isključenja drugih hematoloških bolesti koje mogu nalikovati AA (prvenstveno mijelodisplazija) (5).

Biopsija koštane srži je postupak uzimanja uzorka iz središta koštane srži stražnje kriste ilijačne kosti. Najčešće se koristi Jamshidi igla. Postupak je sličan kao i kod aspiracije, ali, pri kontaktu s kosti, se koristi snažan pritisak. Igla se rotira u smjeru kazaljke na satu i obrnuto do ulaska u srž. Odgovarajući uzorak je duljine 1,6 do 3 cm i stavlja se u formalin za histološku pripremu (5).

#### 5.4. Diferencijalna dijagnoza

Među diferencijalne dijagnoze aplastične anemije pripadaju mnoge hematološke bolesti koje u perifernoj krvnoj slici uzrokuju pancitopeniju ili bicitopeniju: mijelodisplastični sindrom (MDS), paroksizmalna noćna hemoglobinurija (PNH), neke mijeloproliferativne (npr. mijelofibroza) ili limfoproliferativne bolesti. Potrebno je isključiti i infekcije (HIV, mikobakterije, CMV, EBV, HHV-6) ili autoimunosne bolesti (npr. sistemni lupus). Pri dijagnostici AA, najteže je razlučiti radi li se o MDS-u ili o aplastičnoj anemiji.

Mijelodisplastični sindrom (MDS) je heterogeni poremećaj matičnih stanica koštane srži koji se u može prezentirati u hipocelularnom obliku. Dijagnosticira se na temelju nekoliko kriterija: a) citopenija – broj neutrofila je manji od  $1,8 \times 10^9/L$ , hemoglobin niži od 10 g/dL i trombociti manje vrijednosti od  $100 \times 10^9/L$ , b) morfološka displazija jedne ili više krvnih loza, c) citogenetske promjene – najčešće se susreću citogenetske abnormalnosti 7 kromosoma, del(7q), del(5q) i i(17q) (6). Zbog navedenih citogenetskih abnormalnosti, od izrazite važnosti je fluorescentna in situ hibridizacija (FISH) i kariogram. Unatoč tome, u nekim slučajevima će citogenetske promjene postojati i u AA pa će ih biti nemoguće razlikovati, dok u drugim slučajevima AA može prijeći u sekundarni MDS ili akutnu leukemiju.

Neke od osnovnih razlika aplastične anemije i hipocelularnog MDSa su: 1) AA se pojavljuje i u mlađoj i u starijoj dobi, dok se hipocelularni MDS pojavljuje u starijih, 2) citogenetika AA će biti uglavnom normalna, u MDSu će u 50% slučajeva biti abnormalna, 3) u AA će se u 20-30%, a i više slučajeva pojaviti PNH klon, u MDS-u neće, 4) blasti nedostaju u AA, ali u MDS-u mogu biti prisutni (7).



Paroksizmalna noćna hemoglobinurija (PNH) je rijetka bolest karakterizirana stečenom korpuskularnom hemolitičkom anemijom, trombozama i citopenijom u perifernoj krvi. Može nastati kao zasebna bolest, a može se pojaviti i u sklopu AA. Dijagnosticira se protočnom citometrijom periferne krvi čime se otkriva manjak sidrenih proteina za glikozil fosfatidilinozitol (engl. glycosyl phosphatidylinositol anchor protein, GPI protein) na stanicama periferne krvi. Klinička slika je određena veličinom PNH klona i fenotipom eritrocita, a bolest nastaje kao posljedica mutacije PIG-A (Phosphatidylinositol N-acetylglucosaminyltransferase subunit A) gena koji kodira glikozil transferazu što je važna komponenta u stvaranju sidrenog GPI proteina. U PNH enzim gubi svoju funkcionalnost i smanjuje se ekspresija svih proteina koji su sidreni glikozilinozitol fosfatom od kojih su najvažniji CD55 i CD59 zbog čega eritrociti postaju preosjetljivi na komplement i nastaje intravaskularna hemoliza (8,9).

## 6. Liječenje

### 6.1. Potporno liječenje

Oni bolesnici s AA koji imaju tešku neutropeniju ( $<0,5$  g/L) podložni su učestalim infekcijama zbog čega se u takvih teških slučajeva AA preporuča antifungalna i antimikrobna profilaksa. Kinolonski antibiotici poput ciprofloksacina se koriste kod pacijenata s teškom i vrlo teškom AA jer smanjuju rizik od gram negativne sepse. Za antiviralnu profilaksu se najčešće koristi aciklovir i preporuča se tijekom i nakon primanja ATG-a (1,10).

Svim bolesnicima treba biti omogućeno potporno liječenje transfuzijama zbog održavanja kvalitete života, no transfuzije treba davati vrlo restriktivno zbog rizika aloimunizacije i preopterećenja bolesnika željezom. Transfuzija eritrocita se uobičajeno daje pri vrijednostima hemoglobina nižim od 70 g/L, odnosno ako bolesnik ima značajne simptome anemija. Ukoliko se razvije klinička slika u kojoj je bolesnik ovisan o transfuzijama, moguće je preopterećenje željezom stoga je u nekih potrebno uvesti i kelirajuću terapiju (11).

Profilaktična transfuzija trombocita se daje kad broj trombocita padne ispod  $10 \times 10^9$ /L, a u slučaju vrućice ili krvarenja onda i kada budu niži od  $20 \times 10^9$ /L (11).

## 6.2. Liječenje alogeničnom transplantacijom koštane srži

Ako je bolesnik podoban za takav način liječenja, AA se liječi alogeničnom transplantacijom koštane srži (engl. allogeneic stem cell transplantation, HSCT) koja služi ponovnoj uspostavi limfopoeze i hematopoeze (12). Nefunkcionalna koštana srž zamjenjuje se zdravom koštanom srži koja može biti uzeta od HLA-identičnog srodnika, HLA-podudarnog nesrodnog donora ili eventualno HLA-haploidentičnog donora (13).

Prije transplantacije važno je provesti pripremu (kondicioniranje) koja ima tri uloge: a) supresija imunološkog sustava i smanjenje rizika od odbacivanja presatka, b) uništavanje bolesti, c) stvaranje prostora u koštanoj srži za primanje novih stanica. Za kondicioniranje se koristi ciklofosamid 200mg/kg i antitimocitni globulin (ATG). U starijih bolesnika koristi se fludarabin (100-150mg/m<sup>2</sup>) s nižim dozama ciklofosfamida (ukupno 50-100mg/kg) s ATG-om ili eventualno alemtuzumab (0,75-1mg/kg), te niskodozno zračenje cijelog tijela u dozi 2-4 Gy (1,14).

Matične stanice za transplantaciju u AA u pravilu se skupljaju iz koštane srži.

Jedna od najtežih komplikacija je bolest presatka protiv primatelja (engl. graft versus Host Disease, GvHD). Postoje dvije vrste koje se razlikuju po vremenu nastanka: *akutni* i *kronični* GVHD. *Akutni* se javlja između drugog i desetog tjedna nakon alogenične transplantacije i dijagnosticira se u 30 – 50% bolesnika koji su primili transplantat od HLA-identičnog, srodnog donora i u 50 – 80% kod bolesnika s HLA nepodudarnim srodnim ili HLA-identičnim nesrodnim donorom. Posljedica je aktivacije donorskih T-limfocita koje prepoznaju primatelje stanica kao strane. Karakteriziran je hepatitisom, dermatitisom i enteritisom, makulopapularnim osipom na koži na cijelom tijelu (14).

*Kronični* GVHD najčešće se razvija 3 do 6 mjeseci, ali nema vremenskog ograničenja kada se može razviti nakon presađivanja koštane srži. Pojavljuje se u 40-60% bolesnika, sa smrtnošću oko 15%; ne mora slijediti iz akutnog. Klinički izgleda vrlo slično mnogobrojnim autoimunskim bolestima. Može se pojaviti kao suhoća usta i očiju (keratoconjunctivitis sicca), kožne lezije (depigmentacija, skleroderma, poikiloderma, papuloskvamozne promjene), mukozitis usne šupljine, promjene na noktima ( distrofija, oniholiza), alopecija vlasišta, bolest probavnog trakta (proljevi, anoreksija, ezofagealne strikture), bolest pluća, zahvaća zglobove i fascije, genitourinarni sustav, jetru, a može imati i druge simptome (15).

Najteža i rijetka nuspojava je odbacivanje presatka. Pojavljuje se u manje od 2% slučajeva u ukupnog populaciji presađenih, ali u pacijenata s aplastičnom anemijom je nešto češća (12).

### 6.3. Liječenje imunosupresivnom terapijom

Imunosupresivna terapija (IST) u liječenju AA koristi se kod bolesnika koji nemaju odgovarajućeg donora koštane srži i u onih bolesnika koji nisu podobni za liječenje alogeničnom transplantacijom, a mogu podnijeti IST. Prva linija IST je kombinacija konjskog antitimocitnog globulina i ciklosporina, ukoliko je bolesnik dovoljno dobro da podnese taj vid liječenja. Stariji (više od 60 godina) koji se liječe antitimocitnim globulinom (ATG) moraju podleći pažljivoj procjeni jer je njihov mortalitet i rizik od krvarenja i infekcije povišen. Prije primjene ATGa nužna je premedikacija metilprednizolonom u dozi 1mg/kg, paracetamolom i antihistaminicima, a vrijednost trombocita prije i tokom primjene terapije ne smije biti ispod  $20 \times 10^9/L$ . Moguće su brojne nuspojave primijenjenih lijekova – zadržavanje tekućine, vrućica, osipi, anafilaksa (1). Nakon ATG-a, preporuča se nekoliko tjedana nastaviti s primjenom kortikosteroida (prednizolona) kako bi se prevenirala serumska bolest.

Primjena ciklosporina se preporuča u početnoj dozi od 5mg/kg/dan, s početkom u toku smanjivanja doze kortikosteroida. Bolesnici trebaju primati ciklosporin minimalno 6 mjeseci do godine dana nakon završene primjene ATG-a, a potom se doza postepeno smanjuje za 25 mg svakih nekoliko mjeseci (smanjenje rizika kasnog relapsa) (1).

Odgovor na terapiju se očekuje tek 3-4 mjeseca nakon primanja ATG-a. Unatoč zadovoljavajućem odgovoru, postoji rizik evolucije AA u MDS ili akutnu leukemiju (10-15% bolesnika) i relapsa AA (35% bolesnika).

Postoji nekoliko protokola za nastavak terapije u slučaju neadekvatnog odgovora ili relapsa. Osobama koje zadovoljavaju kriterije, može se ponuditi alogenična transplantacija krvnih matičnih stanica, a ukoliko to nije moguće, može se započeti drugi ciklus liječenja ATG-om

(odgovor u relapsnoj AA oko 55%, a u refraktornoj 35%) ili ponuditi liječenje kunićjim ATG-om (u prvoj liniji je uobičajena primjena konjskog zbog boljeg odgovora na liječenje) (1).

Zadovoljavajućim odgovorom smatramo poboljšanje broja eritrocita, leukocita i trombocita iznad granice za dijagnozu *teške* aplastične anemije ili potpuni oporavak sve tri loze kod *ne-teške* AA. Dijagnozi refraktorne AA odgovaraju bolesnici čiji krvni nalazi i nakon 6 mjeseci od početka imunosupresivne terapije ili aloTKS i dalje odgovaraju teškoj pancitopeniji (16).

## 6.4. Eltrombopag u liječenju aplastične anemije

Četvrtina bolesnika s teškom AA ostaje pancitopenična unatoč imunosupresivnoj terapiji. Eltrombopag (ELT) je agonist trombopoetinskih receptora koji se dokazao učinkovitim za liječenje takvih bolesnika. Eltrombopag se veže za trombopoetinski receptor c-MPL na hematopoetskim matičnim stanicama i dovodi do njihove proliferacije, poboljšava hematopoezu i broj krvnih stanica. U fazi 2 ispitivanja lijeka, analiza je pokazala 40%-tni učinak zbog čega je lijek priznat kao monoterapija za refraktornu *tešku* AA, a već je od prije odobren za liječenje imunosne trombocitopenije (ITP). S obzirom da u AA postoji imunološka disregulacija (deficit regulatornih T-limfocita, povećana ekspresija proupalnih citokina i proteina), eltrombopag bi mogao utjecati na neke od tih nepravilnosti direktno ili indirektno povećanjem broja regulatornih T i B limfocita, pojačanom sekrecijom transformirajućeg faktora rasta  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) i smanjenjem otpuštanja interferona  $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) i tumorskog faktora nekroze  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (17).

Mnoga istraživanja su potvrdila učinkovitost ELT-a u AA. U istraživanju koje su proveli Desmond i sur. (18), primarni cilj studije je bio promatrati hematološki odgovor kroz 3 do 4 mjeseca i definirati ga kao unilinijski ili multilinijski prema jednom od sljedećih kriterija: a) odgovor trombocitne loze – povišenje do  $20 \times 10^9/L$  iznad donje referentne vrijednosti ili stabilan broj trombocita bez transfuzija barem 8 tjedana, b) odgovor eritroidne loze – povišenje hemoglobina s manje od 9 na minimalno 1,5g/dL ili smanjenje broja transfuzija barem za 4 u 8 sljedećih tjedana, c) neutrofilni odgovor – ukoliko je ANC prije liječenja manji od  $0,5 \times 10^9/L$  mora biti barem 100% povećanje broja.

Svi bolesnici koji su primljeni u studiju bili su stariji od 12 godina, odgovarali kriterijima teške aplastične anemije i bili su refraktorni na barem 1 ciklus ATG-a u proteklih 6 mjeseci s granulocitima manjim od  $30 \times 10^9/L$  (18).

Početna doza eltrombopaga je bila 50mg s povećanjem od 25mg svaka 2 tjedna dok broj trombocita ne prijeđe  $20 \times 10^9/L$  (do najviše doze od 150 mg), uz suportivnu njegu transfuzijama eritrocita i trombocita. Svaki tjedan je provjeravana kompletna krvna slika i kemijski parametri. U studiju je inicijalno uključeno 25 bolesnika od kojih je 11 (44%) imalo zadovoljavajući odgovor na eltrombopag. U drugoj kohorti dodano je još 18 pacijenata od kojih je 6 odgovorilo barem u jednoj lozi. Ukupno je odgovorilo 17 od 43 pacijenta što je 40%. Kod jednog bolesnika postignut je trolinijski, a četvero je postiglo bilinijski odgovor. Devet od petnaest osoba koje su bile ovisne o transfuzijama trombocita su postale neovisne o njima, a median odgovora je bio 12 tjedana. Četrnaest od sedamnaest bolesnika s odgovorom na liječenje nastavili su uzimati ETG na dulji period (median 12 mjeseci). Većina je pokazala znatno poboljšanje, a sedmero je razvilo trolinijski odgovor (18).

Townsley i sur. (19) su proučavali na tri skupine ispitanika koji redosljed primjene ATG-a, ciklosporina i ETG-a daje najkvalitetnije rezultate. U kohortu su uključeni svi pacijenti stariji od 2 godine s prethodno neliječenom SAA.

Bolesnici su podijeljeni u tri skupine, a svi su primali ciklosporin punih šest mjeseci, kada je procijenjena primarna učinkovitost terapije. U prvoj skupini ETG je dodan u terapiju nakon ATG-a (zbog zabrinutosti za hepatotoksični učinak). Većina odgovora se pojavila već nakon tri mjeseca, ali primjena je nastavljena do isteka 6 mjeseci. U drugoj skupini su također primijenili ETG tek nakon ATG-a, ali su prekinuli terapiju nakon trećeg mjeseca zbog pojave odgovora. U trećoj skupini, ETG je prvi dan dodan u liječenje, istovremeno s primjenom ciklosporina i ATG-a. Primjena je trajala od prvog dana do isteka šestog mjeseca.

Hematološki odgovor promatran je nakon 3 i 6 mjeseci te jednom godišnje svake sljedeće godine. Potpuni odgovor je bio najčešći u skupini 3, čak 58% bolesnika. Najmanji odgovor je postignut u



drugoj skupini gdje je na terapiju odgovorilo samo 26% ispitanika, a i primjena ETG-a je bila najkraća. Kod bolesnika koji su imali *vrlo tešku* AA i odgovorili su na liječenje, median vremena za odgovor (postignut broj neutrofila viši od  $500 \text{ na mm}^3$ ) je bio 48 dana, a median vremena do neovisnosti o transfuziji trombocita je bio 32 dana, a za eritrocitnu transfuziju 39 dana. Dvogodišnje preživljenje bilo je 97% nakon liječenja eltrombopagom (19).

Drexler i Passweg (20) su u svom radu prikazali slično istraživanje. Prikazana je potencijalnu učinkovitost eltrombopaga nakon što je provedeno višefazno kliničko istraživanje Nacionalnog instituta za zdravlje (NIH). Od 43 bolesnika, koji nisu reagirali na inicijalnu imunosupresivnu terapiju, potpuni odgovor je imalo 40% na kraju četvrtog mjeseca terapije. Provedeno je i daljnje kohortno istraživanje u kojem je jedna skupina primala 6 mjeseci eltrombopag, ATG i CSA – ukupni hematološki odgovor skupine bio je 95%, od kojih je 58% odgovora izmjereno nakon 6 mjeseci.

## 7. Zaključak

Aplastična anemija je rijetka i kompleksna bolest nemaligne etiologije. Ukoliko se pravodobno ne liječi, bolest je potencijalno smrtonosna stoga je nužno višemodalitetno liječenje u terciarnim centrima koji imaju iskustvo u liječenju AA.

Konačna dijagnoza postavlja se biopsijom koštane srži no važno je pravodobno prepoznati brojne simptome anemije, trombocitopenije i leukopenije. Uspješno liječenje omogućava alogenična transplantacija koštane srži u selekcioniranih bolesnika i imunosupresivna terapija – ATG-om i ciklosporinom.

Zahvaljujući novim istraživanjima i unapređenju terapija, u terapijske smjernice uvršten je i novi lijek – agonist trombopoetinskih receptora eltrombopag, čiji je povoljan učinak na hematološki oporavak u AA dokazan u mnogim svjetskim studijama.

## 8. Zahvale

Zahvaljujem svom mentoru doc.dr.sc. Draženu Pulaniću na vodstvu, strpljenju i pomoći tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Hvala i mojim kolegama Sari, Robinu, Petru i Kameliji na podršci i savjetima, iskrenosti i razumijevanju.

Posebnu zahvalnost dugujem svojim roditeljima, Snježani i Željku, bez čije potpore i ljubavi moj uspjeh ne bi bio moguć.

## 9. Popis literature

1. Pulanić D, Desnica L, Boban A, Ostojić Kolonić S, Valković T, Gverić-Krečak V i sur. Hrvatske smjernice za dijagnostiku i liječenje stečene aplastične anemije u odraslih. Bilten Krohema. 2020;12(1)42-7.
2. Montané E, Ibáñez L, Vidal X, Ballarín E, Puig R, García N i sur. Epidemiology of aplastic anemia: a prospective multicenter study. Haematologica. 2008;93(4):518–23.
3. Killick SB, Bown N, Cavenagh J, Dokal I, Foukaneli T, Hill A i sur. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia. British Journal of Haematology. 2016;172(2):187–207.
4. Wang L, Liu H. Pathogenesis of aplastic anemia. Hematology. 2019;24(1):559–66.
5. Radhakrishnan N. Bone Marrow Aspiration and Biopsy. Medscape. 2019 [citirano 28. travanj 2021.]; Dostupno na: <https://emedicine.medscape.com/article/207575-overview>
6. Hasserjian RP. Myelodysplastic Syndrome Updated. Pathobiology. 2019;86(1):7–13.
7. Durrani J, Maciejewski JP. Idiopathic aplastic anemia vs hypocellular myelodysplastic syndrome. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2019;2019(1):97–104.
8. Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood. 2014;124(18):2804–11.
9. Parker CJ. Update on the diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2016;2016(1):208–16.
10. Peslak SA, Olson T, Babushok DV. Diagnosis and Treatment of Aplastic Anemia. Curr Treat Options Oncol. 2017;18(12):70.
11. Höchsmann B, Moicean A, Risitano A, Ljungman P, Schrezenmeier H. Supportive care in severe and very severe aplastic anemia. Bone Marrow Transplant. 2013;48(2):168–73.
12. Tabbara IA, Zimmerman K, Morgan C, Nahleh Z. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: complications and results. Arch Intern Med. 2002;162(14):1558–66.
13. Cutler C, Antin JH. Peripheral blood stem cells for allogeneic transplantation: a review. Stem Cells. 2001;19(2):108–17.
14. Zeiser R, Blazar BR. Acute Graft-versus-Host Disease Biology, Prevention and Therapy. N Engl J Med. 2017;377(22):2167-2179.

15. Rodrigues KS, Oliveira-Ribeiro C, de Abreu Fiuza Gomes S, Knobler R. Cutaneous Graft-Versus-Host Disease:Diagnosis and Treatment. *Am J Clin Dermatol*. 2017;19(1):33-50.
16. Scheinberg P, Young NS. How I treat acquired aplastic anemia. *Blood*. 2012;120(6):1185–96.
17. Scheinberg P. Activity of eltrombopag in severe aplastic anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2018;2018(1):450–6.
18. Desmond R, Townsley DM, Dumitriu B, Olnes MJ, Scheinberg P, Bevans M i sur. Eltrombopag restores trilineage hematopoiesis in refractory severe aplastic anemia that can be sustained on discontinuation of drug. *Blood*. 2014;123(12):1818–25.
19. Townsley DM, Scheinberg P, Winkler T, Desmond R, Dumitriu B, Rios O i sur. Eltrombopag Added to Standard Immunosuppression for Aplastic Anemia. *N Engl J Med*. 2017;376(16):1540–50.
20. Drexler B, Passweg J. Current evidence and the emerging role of eltrombopag in severe aplastic anemia. *Ther Adv Hematol*. 2021;12:1-10.

## 10. Životopis

### **Osobni podaci**

Ime i prezime: Matea Hodonj

Datum i mjesto rođenja: 02.09.1996. Zagreb

### **Obrazovanje**

2015.- 2021. : Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

- Demonstrator na Katedri za anatomiju 2016. – 2018.
- Dobitnica Stipendije Grada Samobora po kriteriju izvrsnosti 2020. godine
- Aktivno sudjelovanje na studentskim kongresima: NeuRi (2019. I 2021), ZIMS (2019.), CROSS (2020.)

2011. – 2015.: Druga gimnazija, Zagreb

- Završila sam školu kao jedna od najboljih učenica u generaciji
- Položen B2 stupanj znanja francuskog jezika s jednim od najboljih rezultata u državi u svojoj kategoriji
- Dobitnica stipendije Grada Samobora po kriteju izvrsnosti 2011. – 2015.

2003. – 2011.: Osnovna škola Samobor, Samobor

- Završila sam školu kao učenica generacije
- Osvojila drugo (2.) mjesto na državnom natjecanju iz francuskog jezika 2010.

2005. – 2011. : Osnovna glazbena škola “Ferdo Livadić”, Samobor

### **Strani jezici**

Aktivno se koristim engleskim i francuskim jezikom.

## **Ostala postignuća**

Do 2014. godine, osvojila sam nekoliko naslova kadetske prvakinje u katama, u svojoj kategoriji Kyokushin Karate Saveza.

Do 2011. godine, završila sam tečajeve informatičkog obrazovanja u programima osposobljavanja za zvanje “Računalni operater”, te program usavršavanja za zvanje “Administrator obrade podataka”.