

# Dijagnostika i liječenje trombotičke trombocitopenične purpore

---

Prtenjača, Ana-Maria

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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:105:344619>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-30**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Ana-Maria Prtenjača**

**Naslov**

**Dijagnostika i liječenje trombotične  
trombocitopenične purpore**

**Diplomski rad**



**Zagreb, 2022.**

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Zagreb i na Katedri za internu medicinu Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom izv. prof. prim. dr. sc. Dražena Pulanića, dr. med., znanstvenog savjetnika, i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2021./2022.

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

**ADAMTS13** – proteaza iz skupine ADAMTS koja cijepa von Willebrandov faktor (engl. a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif)

**C3a** – komponenta komplementa 3a

**C5a** – komponenta komplementa 5a

**CD20** – površinski antigen na membrani limfocita B (engl. cluster of differentiate 20)

**cTTP** – kongenitalna trombotična trombocitopenična purpura

**dL** - decilitar

**E.coli** – Escherichia coli

**ELISA** – imunoenzimski test (engl. enzyme-linked immunosorbent assay)

**FRET** – fluorescentno rezonantni energetski transfer (engl. fluorescence resonance energy transfer)

**FVIII** – faktor VIII

**HIV** - virus humane imunodeficijencije (engl. human immunodeficiency virus)

**HLA** - antigen humanih leukocita (engl. human leukocyte antigen)

**HUS** – hemolitičko-uremijski sindrom

**IgG** – imunoglobulin G

**IL-8** – interleukin 8

**INR** – internacionalni normirajući omjer (engl. international normalized ratio)

**ISTH** – Međunarodno udruženje za trombozu i hemostazu (engl. International Society on Thrombosis and Haemostasis)

**iTTP** – imunosna (stečena) trombotična trombocitopenična purpura

**IU** – međunarodna jedinica (engl. international unit)

**LDH** – laktat dehidrogenaza

**MAHA** – mikroangiopatska hemolitička anemija (engl. microangiopathic hemolytic anemia)

**MCV** – prosječni volumen eritrocita (engl. mean corpuscular volume)

**RA** – reumatoidni artritis

**rADAMTS13** – rekombinantni ADAMTS13

**SLE** – sistemski eritematozni lupus (engl. systemic lupus erythematosus)

**TMA** – trombotička mikroangiopatija (engl. thrombotic microangiopathy)

**TNF** - tumorski faktor nekroze (engl. tumor necrosis factor)

**TPE** – terapijska izmjena plazme (engl. therapeutic plasma exchange)

**TTP** – trombotična trombocitopenična purpura

**ULVWF** – ultra-veliki multimeri von Willebrandovog faktora (engl. ultra-large von Willebrand factor)

**vWF** – von Willebrandov faktor

# Sadržaj

Sažetak

Summary

<b>1. Trombotična trombocitopenična purpura – definicija</b> .....	1
<b>2. Epidemiologija</b> .....	2
<b>3. Klinička slika</b> .....	4
<b>4. Patogeneza</b> .....	6
<b>5. Diferencijalna dijagnoza</b> .....	9
<b>6. Dijagnostika</b> .....	12
6.1. Klinička procjena .....	12
6.2. Laboratorijska dijagnostika .....	14
6.3. ISTH smjernice u dijagnostici TTP-a.....	16
<b>7. Liječenje</b> .....	18
7.1. Terapijska izmjena plazme i infuzija plazme .....	18
7.2. Kortikosteroidi.....	20
7.3. Rituksimab.....	21
7.4. Kaplacizumab.....	23
7.5. Ostale terapijske mogućnosti .....	24
7.6. Rekombinantni ADAMTS13 .....	26
7.7. ISTH smjernice u liječenju TTP-a.....	27
<b>8. Zaključak</b> .....	31
<b>9. Zahvale</b> .....	32
<b>10. Popis literature</b> .....	33
<b>11. Životopis</b> .....	35

# Sažetak

## Dijagnostika i liječenje trombotične trombocitopenične purpura

Ana-Maria Prtenjača

Trombotična trombocitopenična purpura (TTP) je rijetka mikroangiopatija karakterizirana trombocitopenijom, mikroangiopatskom hemolitičkom anemijom, vrućicom, oslabljenom bubrežnom funkcijom te neurološkim poremećajima. Uzrok TTP-a je nedostatak enzima ADAMTS13 koji cijepa von Willebrandov faktor. Snižena razina aktivnosti ADAMTS13 uzrokuje stvaranje mikrotromba što vodi u ishemiju i oštećenje organa. Nedostatak ADAMTS13 je najčešće stečen u odraslih (stečeni imunosni TTP, iTTP) i nastaje kao rezultat stvaranja anti-ADAMTS13 antitijela. Ova antitijela neutraliziraju proteolitičku aktivnost ADAMTS13 ili ubrzavaju njegovo otklanjanje iz plazme. Nasljedni kongenitalni oblik TTP-a (cTTP) se najčešće otkrije u mlađoj dobi ili tijekom trudnoće. Ovaj tip bolesti nastaje kao posljedica mutacije koja se nasljeđuje autosomno recesivno te uzrokuje smanjeno stvaranje ADAMTS13.

Akutna epizoda TTP-a obično ima nespecifičnu inicijalnu kliničku sliku. Bolesnik može razviti glavobolju, konfuziju, slabost, povraćanje ili proljev, a laboratorijski trombocitopeniju i mikroangiopatsku hemolitičku anemiju, s ishemijom mikrocirkulacije različitih organa. Tipična pentada simptoma koja uključuje vrućicu, promijenjeni mentalni status, anemiju, trombocitopeniju i zatajenje bubrega razvije se u manje od 10% slučajeva.

Brzo postavljanje dijagnoze je važno jer je ovo hitno stanje sa visokom smrtnošću bez liječenja. U bolesnika sa visokom kliničkom sumnjom na TTP preporuča se uzeti uzorak plazme za testiranje aktivnosti ADAMTS13 i anti-ADAMTS13 IgG antitijela prije započinjanja terapije.

U prvotnoj akutnoj epizodi te u relapsima iTTP-a preporuča se primijeniti terapijsku izmjenu plazme (TPE) uz kortikosteroide te razmotriti primjenu rituksimaba i kaplacizumaba. U asimptomatskih slučajeva iTTP-a s niskom plazmatskom aktivnošću ADAMTS13 može se koristiti rituksimab, dok se u trudnoći preporuča profilaktička upotreba TPE. Za asimptomatske slučajeve cTTP-a preporuča se profilaktički upotrijebiti infuziju plazme u trudnoći. Za asimptomatske slučajeve cTTP-a izvan trudnoće preporuča se periodična primjena infuzije plazme ili oprezna opservacija. Ispituju se i novi lijekovi, poput rekombinantnog ADAMTS13.

U zaključku, TTP je rijetka ali životno ugrožavajuća bolest na koju se treba uvijek posumnjati kod mikroangiopatske hemolitičke anemije s trombocitopenijom. Bolest ima šaroliku kliničku sliku s ishemijom i trombozama različitih organa, potrebna je žurna dijagnostička obrada i hitno liječenje kako bi se spriječila inače visoka smrtnost.

Ključne riječi: trombotična trombocitopenična purpura, ADAMTS13, terapijska izmjena plazme, rituksimab, kaplacizumab

# Summary

## Diagnosis and treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura

Ana-Maria Prtenjača

Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is a rare microangiopathy characterised by thrombocytopenia, microangiopathic haemolytic anaemia, fever, impaired renal function and neurological disorders. The cause of TTP is deficiency of an enzyme that cleaves von Willebrand's factor called ADAMTS13. Lower serum level of ADAMTS13 activity leads to the formation of microthrombi causing ischaemia and organ damage. ADAMTS13 deficiency is mostly immune-mediated in adults as a result of anti-ADAMTS13 antibody formation (immune-mediated TTP, iTTP). These antibodies either neutralise the proteolytic activity of ADAMTS13 or accelerate its removal from plasma. The hereditary congenital form of TTP (cTTP) is mostly detected in younger age or during pregnancy. This type of TTP is a result of mutation characterised by autosomal recessive inheritance and it causes decreased ADAMTS13 excretion.

An acute episode of TTP is characterised by nonspecific initial clinical presentation. The patient can suffer from headache, confusion, weakness, vomiting or diarrhoea, while the laboratory results can show thrombocytopenia and microangiopathic haemolytic anaemia, along with microcirculatory ischaemia of various organs. The typical pentad including fever, altered mental status, anaemia, thrombocytopenia and kidney failure develops in less than 10% of cases.

Timely diagnosis is important because this condition is considered a medical emergency and has a high mortality rate if untreated. In patients with a high clinical suspicion of TTP it is recommended to collect a plasma sample for testing ADAMTS13 activity and anti-ADAMTS13 IgG antibodies before initiating therapy.

For the first acute episode and relapses of iTTP, it is strongly recommended to add corticosteroids to therapeutic plasma exchange (TPE) and to consider adding rituximab and caplacizumab. In asymptomatic cases of iTTP with low plasma ADAMTS13 activity it is recommended to use rituximab, whereas during pregnancy prophylactic TPE is advised. For asymptomatic cases of cTTP it is suggested to use plasma infusion during pregnancy as a prophylaxis. For asymptomatic cases of cTTP outside of pregnancy it is recommended to use either plasma infusion periodically or a watch and wait approach. Some new drugs are currently being tested, such as recombinant ADAMTS13.

In conclusion, TTP is a rare life-threatening disease which should always be suspected in cases with microangiopathic haemolytic anaemia with thrombocytopenia. It has various clinical presentations with ischaemia and thrombosis affecting various organs, timely diagnosis and treatment are needed to prevent the otherwise high mortality rate.

Key words: thrombotic thrombocytopenic purpura, ADAMTS13, therapeutic plasma exchange, rituximab, caplacizumab



# 1. Trombotična trombocitopenična purpura – definicija

Trombotična trombocitopenična purpura (TTP) je rijetka mikroangiopatija karakterizirana pojavom trombocitopenije, mikroangiopatske hemolitičke anemije (MAHA), vrućice, poremećaja bubrežne funkcije te neuroloških poremećaja.<sup>1</sup> U akutnoj epizodi bolesti, često nije prisutno svih pet navedenih obilježja istovremeno.

Bolest nastaje zbog teškog manjka ADAMTS13, metaloproteinaze koja cijepa von Willebrandov faktor (vWF) te na taj način inaktivira velike multimerne vWF-a. Veliki multimeri vWF-a rezultiraju stvaranjem mikrotromba i ishemijom i oštećenjem organa. Od svih organskih sustava, najčešće su zahvaćeni središnji živčani sustav i bubrezi.

Nedostatak ADAMTS13 je najčešće stečeni što dovodi do stečene imunosporedovane TTP (iTTP) i posljedica je djelovanja anti-ADAMTS13 autoantitijela, ali postoji i u nasljednom kongenitalnom obliku kao rezultat mutacije gena koji kodiraju ovu proteazu, i tada nastaje nasljedni (kongenitalni) TTP (cTTP). U odraslih, stanje je uglavnom stečeno te imunosporedovano, dok se kongenitalni oblik uglavnom uočava u djetinjstvu ili tijekom trudnoće. Dijagnoza se postavlja na temelju kliničke procjene i laboratorijskih nalaza.<sup>1</sup>

## 2. Epidemiologija

TTP je rijetka bolest, a procjenjuje se da joj je incidencija 1-13 slučajeva na milijun ljudi, ovisno o zemlji u kojoj se promatra.<sup>1</sup> Najčešće se pojavljuje iza četrdesete godine života, ali i u djece kad se radi o kongenitalnom obliku bolesti. Smrtnost TTP-a bez primjene terapije doseže i 90%, a čak i uz odgovarajuću terapiju iznosi 10-15%. Čimbenici povezani sa većim rizikom od razvoja TTP-a su ženski spol, afroameričko porijeklo i trudnoća.<sup>1</sup>

iTTP se tipično prezentira u odrasloj dobi. Pretpostavlja se da određeni demografski čimbenici utječu na veličinu incidencije u promatranoj zemlji. Primjerice, u Francuskoj i Njemačkoj, čije je stanovništvo predominantno bijele rase, incidencija je približno 1,5 slučajeva na milijun stanovnika godišnje.<sup>2</sup> Godišnja incidencija u Sjedinjenim Američkim Državama je nešto veća, 2,99 slučajeva na milijun stanovnika godišnje, vjerojatno kao posljedica većeg udjela pripadnika crne rase koji imaju osmostruko povećanu incidenciju TTP-a.<sup>2</sup>

Osim za etničko porijeklo, postoje dokazi koji ukazuju na genetsku predispoziciju za razvoj anti-ADAMTS13 autoantitijela. U bijele rase, pojačano je izražen alel *HLA-DRB1\*11* u slučaju razvijenog iTTP-a, dok je *HLA-DRB1\*04* češći u zdravih ljudi, što ukazuje na njegovu protektivnu ulogu. Pretpostavlja se da sveukupna niža zastupljenost *HLA-DRB1\*04* u pripadnika crne rase pridonosi njihovoj većoj podložnosti razvoju iTTP-a. Međutim, smatra se da postoje još uvijek neidentificirani rizični čimbenici. Bolesnici sa iTTP-om i istovremeno prisutnom bolešću vezivnog tkiva, posebno sistemskog eritematoznog lupusa (SLE), smatraju se posebnim entitetom i često se kod njih utvrdi teški nedostatak ADAMTS13.<sup>3</sup> Značajan je broj nositelja heterozigotnih mutacija gena koji kodira ADAMTS13, a kojima je dijagnosticirana iTTP. To ukazuje na ulogu varijanti te sekvence kao okidača razvoja autoantitijela te ubrzavanja pada aktivnosti ADAMTS13 ispod kritične razine. Obligatorni

nositelji mutacije, poput roditelja bolesnika sa cTTP-om, tipično imaju aktivnost ove proteaze od oko 50% i općenito su zdravi, iako su u nekih od njih prijavljene blage trombocitopenije tijekom trudnoće ili infekcija.

Iako je prevalencija cTTP-a nepoznata, pretpostavlja se da se o njoj radi u manje od 5% svih akutnih slučajeva TTP-a. Dob u kojoj se dijagnosticira pokazuje bimodalnu distribuciju. Otprilike polovica bolesnika razvije kliničku sliku u dobi 2-5 godina, a druga u ranoj odrasloj dobi. Posebno je česta prva epizoda tijekom trudnoće. Među ženama koje su imale prvu epizodu TTP-a tijekom prve trudnoće, učestalost cTTP-a je bila 25-66%.<sup>3</sup>

Teški nedostatak ADAMTS13 u cTTP-u je posljedica složenih heterozigotnih ili homozigotnih mutacija, a otkriveno je više od 100 različitih. Ovaj oblik TTP-a podjednako pogađa muškarce i žene. Kao što je to tipično za autosomno-recesivne poremećaje, pojedinci koji su nositelji homozigotne ADAMTS-13 mutacije su primarno pronađeni u obiteljima sa zabilježenim krvnim srodstvom roditelja.<sup>3</sup>

### 3. Klinička slika

Iako je pojava bolesti tipično nagla, često se navodi pojava prodromalnih simptoma koji uključuju umor, artralgiju, mialgiju te bol u trbuhu ili lumbalnu bol, što nalikuje na simptome gripe.<sup>3</sup>

Inicijalna klinička slika može biti nespecifična, a uključuje slabost, glavobolju, konfuziju, mučninu, povraćanje i proljev. Tipična pentada znakova koja uključuje vrućicu, promijenjeni mentalni status, anemiju, trombocitopeniju i zatajenje bubrega, pojavljuje se u manje od 10% slučajeva. Najčešće se razviju trombocitopenija i MAHA, a oboje su povezani sa razvojem kutanog i sluzničnog krvarenja, slabosti i dispneje. Bolesnici često navode da su prije akutne epizode TTP-a imali infekciju.<sup>4</sup>

Simptomi poremećaja rada organa su često nespecifični i vrlo varijabilni.

Hipoperfuzija mozga uzrokuje široki spektar nespecifičnih neuroloških simptoma: glavobolju, poremećaj govora, vrtoglavicu, agitaciju, moždani udar, sljepilo, epileptički napadaj ili komu.

Zahvaćanje bubrega se prezentira povišenom razinom serumskog kreatinina, oligurijom ili anurijom te hemoglobinurijom koja nastaje kao posljedica hemolize. Hemoliza može dovesti i do nastanka žutice te znakova anemije.

Trombocitopenija se ponekad prezentira purpurom, a velika krvarenja su rijetkost.<sup>5</sup>

Zahvaćanje srca je ozbiljna komplikacija TTP-a koja može dovesti do smrtonosnog ishoda. Prezentira se porastom srčanih enzima (troponin, kreatin-kinaza) te promjenama u elektrokardiogramu koje se povezuju sa razvojem infarkta miokarda, aritmijama ili zatajenjem srca.

Od ostalih organa, mogu biti zahvaćena pluća, gušterača i crijeva. Zahvaćanje pluća se očituje poremećajem u izmjeni plinova. U slučaju da je to gušterača, moguć je razvoj

dijabetesa i povišene vrijednosti enzima, dok se kod zahvaćanja crijeva razvijaju simptomi poput boli u trbuhu, mučnine, povraćanja i proljeva.<sup>5</sup>

Nadalje, bolesnici mogu imati simptome povezane sa drugim stanjem prisutnim istovremeno ili otprije. Približno, u polovici bolesnika se može pronaći klinička stanja poput bakterijskih infekcija, SLE, antifosfolipidnog sindroma, malignog tumora, HIV infekcije, trudnoće, transplantacije organa ili bolesnici konzumiraju lijekove poput kinina, mitomicina C, klopidogrela i tiklodipina.<sup>4</sup>

Ukoliko se ne primjeni terapija, stanje se pogoršava do multiorganskog zatajenja sa smrtonosnim ishodom unutar nekoliko dana ili tjedana. Podaci dobiveni iz autopsija bolesnika s TTP-om pokazuju da su u skoro svim organima prisutni mikrovaskularni trombi, naročito u mozgu (primarno u cerebralnom korteksu), srcu, bubrezima i probavnom traktu, ali i u slezeni, gušterači te u nadbubrežnim žlijezdama.<sup>3</sup>

## 4. Patogeneza

U patofiziologiji TTP-a ADAMTS13 je enzim od kritične važnosti. Sintetizira se većinom u jetrenim stanicama, a jedina poznata funkcija mu je regulacija multimera VWF-a. Nakon obrade u endoplazmatskom retikulumu, ADAMTS13 je aktivan i kao takav se oslobađa u cirkulaciju. Ne postoji fiziološki inhibitor aktivnosti ADAMTS13 i do sada još nemamo sve informacije o reakcijama uključenim u uklanjanje ove proteaze iz plazme. Jedini poznati supstrat tog enzima je vWF, multimerični plazmatski glikoprotein kojeg sintetiziraju endotelne stanice i megakariociti. Biosinteza vWF-a je složena, a njegovi sintetizirani multimeri se oslobađaju iz endotelnih stanica ili pohranjuju kao ultra-veliki multimeri (ULVWF). Razni agonisti, poput citokina (TNF, IL-8) i histamina stimuliraju izlučivanje ULVWF-a iz endotelnih stanica. Multimeri ostaju pričvršćeni za endotelnu površinu kao duge, poput lanaca, hiperadhezivne strukture ili se oslobađaju u cirkulaciju. Zbog smičnog naprežanja (engl. shear stress) razmataju se pričvršćeni te netom oslobođeni multimeri ULVWF, čime se izlažu vezna mjesta za trombocite i mjesta za cijepanje. Aktivnost enzima ADAMTS13 reguliraju konformacijske promjene. Vezanje vWF-a za enzim u zatvorenoj konformaciji vodi u otkrivanje sekundarnih veznih mjesta te u konformacijsku aktivaciju proteaze. Pretpostavlja se da ovaj proces čini ADAMTS13 podložnim imunološkom prepoznavanju. Proteoliza ULVWF-a stvara kraće multimerne varijabilnih molekularnih težina, ovisno o tome na kojem mjestu se odvija cijepanje. Manji multimeri koji se dobiju poprimaju složenu konformaciju koja sprječava spontano vezanje trombocita i daljnje razlaganje ADAMTS13.<sup>2,3</sup>

Pri nedostatnoj aktivnosti ADAMTS13, ULVWF perzistiraju u cirkulaciji te više nije onemogućeno spontano vezanje trombocita. U ovom slučaju, multimeri se vežu za trombocite, akumuliraju ih i aktiviraju, a kao rezultat nastaju mikrotrombi. Ovi diseminirani

mikrotrombi troše trombocite i razvija se trombocitopenija. Također, mehanički se uništavaju crvene krvne stanice, što vodi u hemolitičku anemiju sa nastankom fragmentiranih crvenih krvnih stanica koje okludiraju mikrocirkulaciju i uzrokuju ishemiju organa.<sup>3</sup>

S obzirom na mehanizam nastanka, postoje dva oblika ove bolesti: kongenitalni (nasljedni) TTP (cTTP) i stečeni imunosni TTP (iTTP). Stečeni oblik se dijeli na primarni i sekundarni.

Kongenitalni (nasljedni) oblik (poznat i kao Upshaw-Schulman sindrom) je autosomno recesivno prenosiva bolest uzrokovana bialelnim mutacijama gena koji kodira ADAMTS13 proteazu, a gen se nalazi na kromosomu 9. Mutacije često rezultiraju smanjenim izlučivanjem proteaze, ali mogu utjecati i na njenu aktivnost.<sup>2</sup>

Stečeni oblik nastaje zbog stvaranja anti-ADAMTS13 autoantitijela. Određeni faktori, kao što je afričko porijeklo i ženski spol, predisponirajući su za razvoj ovih antitijela. Antitijela se dijele u dvije skupine: inhibirajuća i neinhibirajuća. Inhibirajuća antitijela neutraliziraju proteolitičku aktivnost ADAMTS13, a neinhibirajuća se vežu na proteazu i time ubrzavaju njeno uklanjanje iz plazme. Pronađena su antitijela na sve domene proteaze, što upućuje na poliklonalni imunološki odgovor. Međutim, domena „spacer“ na ADAMTS13 je utvrđena kao ključna imunogenična regija jer se u većine bolesnika s iTTP-om mogu naći antitijela na ovu domenu. Još uvijek se istražuje uloga nedavno pronađenih autoantitijela koja induciraju promjenu konformacije proteaze iz zatvorene u otvorenu. Pretpostavlja se da imunološki odgovor možda provociraju neke bakterije ili virusi mehanizmom molekularne mimikrije.<sup>2,3</sup>

Pronađeni su i imunokompleksi u bolesnika tijekom akutne epizode iTTP-a. S obzirom da su tijekom akutne epizode povišene razine C3a i C5a, pretpostavlja se da se komplement aktivira klasičnim putem, preko imunokompleksa antigena ADAMTS13 i antitijela. S druge

strane, povišene razine faktora Bb upućuju na aktivaciju alternativnog puta. Još uvijek je nepoznat klinički značaj aktivacije komplementa u TTP-u.

Stečeni oblik se klasificira kao primarni kad ne postoji neki očiti podležeci uzrok ili kao sekundarni kada je takav uzrok identificiran. Većina slučajeva iTTP-a su primarni.

Sekundarni se može povezati s infekcijama, a najviše je dokaza po pitanju povezanosti s HIV infekcijom. Kao potencijalni okidač sekundarnog iTTP-a identificiran je i pankreatitis. Mnogi lijekovi se dovode u vezu sa sekundarnom trombotičnom mikroangiopatijom (TMA), ali rijetko su udruženi sa nedostatkom ADAMTS13. Iznimka je tiklopidin kojeg se povezuje sa teškim nedostatkom ADAMTS13 pa se to stanje može smatrati sekundarnim iTTP-om.

Sekundarni iTTP se također povezuje s različitim autoimunskim poremećajima, a najčešće sa SLE. Bilo da se radi o primarnom ili sekundarnom TTP-u, potrebna je brza terapija. U slučaju sekundarnog iTTP-a, potrebno je dodatno tretirati i stanje koje je dovelo do razvoja iTTP-a.<sup>2</sup>



## 5. Diferencijalna dijagnoza

U diferencijalnoj dijagnozi treba promišljati o hemolitičko-uremijskom sindromu (HUS) povezanom sa djelovanjem Shiga-toksina, atipičnom HUS-u, TMA povezanoj s lijekovima, transplantacijom krvotvornih matičnih stanica ili solidnih organa, diseminiranom neoplazmom, HIV infekcijom, bolestima vezivnog tkiva i o TMA induciranoj trudnoćom.<sup>2,3</sup>

HUS povezan s djelovanjem Shiga-toksina najčešće uzrokuje enteropatogena bakterija *Escherichia coli* (*E.coli*) koja otpušta Shiga-toksin, a mogući uzročnik je i *Shigella*. Očituje se kao TMA koja nastaje 5-7 dana nakon infekcije.<sup>2</sup> Većinom pogađa djecu mlađu od 5 godina i rijetko se razvija u odraslih. U prodromalnom stadiju razvija se proljev koji postaje krvav nakon 1-2 dana. Karakterističan je razvoj trijasa kojeg čine trombocitopenija, MAHA i zatajenje bubrega koje je često teško. Ovi bolesnici imaju najčešće normalnu ili blago sniženu razinu aktivnosti ADAMTS13. Sveukupni podaci navode na to da teška infekcija izazvana *E.coli* može voditi ne samo do razvoja HUS-a, nego i u rijetkim slučajevima do autoimunosne reakcije na enzim ADAMTS13. Također, moguće je da Shiga-toksin djeluje kao okidač akutne TMA u nekolicine bolesnika s otprije prisutnim autoimunosnim odgovorom na ADAMTS13. Osim toga, Shiga-toksin može reducirati razinu proteolize vWF-a od strane ADAMTS13, vežući se na restrikcijsku regiju.<sup>3</sup>

Atipičan HUS se mora uzeti u obzir kao diferencijalna dijagnoza, naročito kad je prisutno zatajenje bubrega. Ovaj oblik sindroma je rijedak. Često je povezan s nekontroliranom aktivacijom alternativnih puteva sustava komplementa, a u podlozi se mogu naći različiti mehanizmi koji nastanu kao posljedica mutacija ili autoantitijela.<sup>3</sup>

Neki lijekovi induciraju pojavu akutne TMA, poput inhibitora kalcineurina (mitomicin C i gemcitabin), inhibitora vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF), kinina ili intravenske

zloupotrebe peroralnog oksimorfona. Obično ovi slučajevi nisu povezani sa nedostatkom ADAMTS13.<sup>2,3</sup> Iznimka je tiklodipin, antiagregacijski lijek iz skupine tienopiridina koji je povezivan sa razvojem akutnog TTP-a nakon 2-4 tjedna od upotrebe. Noviji tienopiridini poput klopidogrela i prasugrela rijetko induciraju TMA. Aktivnost ADAMTS13 je obično unutar referentnih vrijednosti, a anti-ADAMTS13 inhibirajuća autoantitijela su odsutna u bolesnika koji razviju TMA kao posljedicu terapije klopidogrelom.<sup>3</sup>

TMA se može razviti u bolesnika kojima se transplantiraju krvotvorne matične stanice ili solidni organi. Takvi pacijenti često primaju imunosupresivnu terapiju poput takrolimusa ili ciklosporina.<sup>2</sup> TMA povezana sa transplantacijom krvotvornih matičnih stanica gotovo nikad nije udružena s teškim nedostatkom ADAMTS13. Pretpostavlja se da patofiziološku ulogu ima toksično djelovanje na endotelne stanice uzrokovano kemoterapijom, zračenjem ili reakcijom presatka protiv domaćina. TMA udružena s diseminiranom neoplazmom je također rijetko udružena s teškim nedostatkom ADAMTS13.<sup>3</sup>

Udio bolesnika s akutnom TMA koji istovremeno imaju HIV infekciju je različit ovisno o geografskom području i stoga prevalenciji HIV infekcije, dostupnosti zdravstvene skrbi i antiretroviralne terapije. HIV infekcija je daleko najčešći uzrok TMA u Južnoj Africi, dok se u Europi danas rijetko viđa TMA uzrokovana HIV-om zbog dostupnosti antiretroviralne terapije.<sup>3</sup>

TMA se može razviti u bolesnika kojima su dijagnosticirane bolesti vezivnog tkiva poput SLE, reumatoidnog artritisa (RA) te sistemske skleroze. Prema dostupnim podacima iz istraživanja, većina ovih bolesnika ima normalnu ili blago sniženu aktivnost ADAMTS13, no kod nekih bolesnika sa SLE ili RA se može pronaći teški nedostatak ADAMTS13 posredovan autoantitijelima, odnosno iTTP.<sup>2,3</sup>

Izazov je ispravno postaviti dijagnozu u trudnica koje se prezentiraju akutnom TMA. Zbog sličnih kliničkih značajki poput hemolize, povišenih jetrenih enzima i niske razine trombocita, od TTP-a je teško razlikovati preeklampsiju i HELLP sindrom. Pri promišljanju o diferencijalnoj dijagnozi treba voditi računa o pojavi arterijske hipertenzije i edema koji su karakteristični za preeklampsiju te teškog jetrenog oštećenja u HELLP sindromu. Aktivnost ADAMTS13 je normalna do blago snižena u HELLP sindromu. Preeklampsija i HELLP sindrom se obično prezentiraju u trećem tromjesečju, tipično nakon 34. tjedna gestacije i razrješe se u nekoliko dana nakon poroda. Iako je dijagnoza cTTP-a manje česta od HELLP sindroma, prva pojava se često uočava tijekom trudnoće. Većina žena koje imaju cTTP razviti će akutnu epizodu tijekom svoje prve trudnoće, često prije trećeg tromjesečja, čak i ako dotad nije bilo simptoma. Tijekom trudnoće se može razviti i iTTP. Ipak, žene koje razviju prvu epizodu iTTP-a tijekom prve trudnoće imaju umjeren rizik od relapsa, za razliku od žena s cTTP-om koje često imaju pogoršanje bolesti tijekom narednih trudnoća. Također, žene koje prvu epizodu iTTP-a razviju tijekom trudnoće, u narednim imaju povećan rizik od preeklampsije.<sup>2,3</sup>

## 6. Dijagnostika

### 6.1. Klinička procjena

Na TTP bi se trebalo posumnjati u svih bolesnika sa MAHA i trombocitopenijom, ako nije prisutna neka očita druga etiologija. Iako su ta dva stanja obilježja TTP-a, zahvaćanje različitih organa i težina bolesti su vrlo varijabilni.

MAHA je oblik hemolitičke anemije karakteriziran pojavom fragmentiranih crvenih krvnih stanica na perifernom razmazu, odnosno shistocita. Oni se mogu naći i u zdravih pojedinaca s gornjom granicom od 2-3 na 1000 crvenih krvnih stanica, a u njih nastanu kao posljedica fragmentacije pri vađenju krvi. U slučaju TTP-a ili drugih TMA, shistociti nastaju kao posljedica mehaničkog razaranja eritrocita prilikom prolaska kroz mikrovaskularne trombe. Također, mogu nastati kao posljedica defekta membrane eritrocita ili toplinske ozljede. U tim slučajevima, praćeni su i ostalim morfološkim abnormalnostima poput mikrosferocita, dakriocita i ehinocita. Dakle, shistociti upućuju na TTP ili ostale TMA ukoliko predstavljaju dominantne abnormalnosti u krvnom razmazu. Shistociti čine više od 1% svih eritrocita u većini TMA. Ukoliko je postotak manji, to ipak ne isključuje TTP, a razloga je više. Mogu se pojaviti odgođeno, nakon razvoja kliničkih znakova i simptoma. Ponekad se shistociti ni ne uoče tijekom bolesti, naročito u relapsu. U usporedbi s ostalim TMA, bolesnici s TTP-om imaju viši prosječni postotak shistocita, a iznosi 4-8%.<sup>6</sup>

Trombocitopenija je obično teška i prezentira se brojem trombocita  $10-17 \times 10^9/L$ . Veći broj trombocita ( $>30 \times 10^9/L$ ) upućuje na neku drugu TMA, ali ne isključuje TTP. Uočeni znakovi krvarenja su najčešće ekhimoze, petehije i menoragije (u žena).

Rijetko, TTP se može prezentirati atipičnom kliničkom slikom. Akutni pankreatitis i krvavi proljev su opisani kao moguće početne manifestacije, a oboje su posljedica ishemije. U

slučaju proljeva, TTP može nalikovati na HUS izazvan Shiga-toksinom. Akutni neurološki simptomi poput moždanog udara ili napadaja mogu prethoditi razvoju MAHA ili trombocitopenije. U ovim slučajevima je posebno korisno ponavljati periferni krvni razmaz i testiranje ADAMTS13. Pri evaluiranju bolesnika s TMA, primarni je cilj što prije primjeniti terapijsku izmjenu plazme (TPE) u bolesnika koji imaju TTP. Također, cilj je i izbjeći nepotrebnu primjenu TPE u bolesnika koji imaju TMA, a nemaju TTP jer je tada veća korist od drugih terapijskih opcija.<sup>6</sup>

S obzirom da brzo testiranje ADAMTS13 u većini centara nije dostupno, razvili su se modeli koji olakšavaju kliničku procjenu. Obuhvaćaju osnovne kliničke i laboratorijske parametre u procjeni vjerojatnosti teškog nedostatka ADAMTS13 i samim time TTP-a. Najnoviji bodovni sustav pod nazivom „PLASMIC score“ sadrži 7 komponenti i stratificira bolesnike u one sa niskim (0-4), srednjim (5) i visokim rizikom (6-7) od TTP-a.<sup>7</sup>

*Tablica 1.* PLASMIC score za procjenu vjerojatnosti teškog nedostatka ADAMTS13 u bolesnika sa suspektnim TTP-om.<sup>7</sup>

LABORATORIJSKI PARAMETAR	BODOVANJE
Broj trombocita <30x10 <sup>9</sup> /L	+1
Serumski kreatinin <2,0 mg/dL	+1
Hemoliza (nekonjugirani bilirubin >2 mg/dL, broj retikulocita >2,5% ili nedetektibilan haptoglobin)	+1
Odsutnost aktivne maligne neoplazme u prethodnoj godini	+1
Odsutnost transplantacije solidnih organa ili krvotvornih matičnih stanica	+1
INR <1,5	+1
MCV <90 fL	+1

## 6.2. Laboratorijska dijagnostika

U dijagnostici TTP-a se koristimo utvrđivanjem aktivnosti ADAMTS13 i anti-ADAMTS13 antitijela za razlikovanje TTP-a od ostalih TMA te u razlikovanju iTTP-a od cTTP-a.

Pri korištenju eseja za testiranje aktivnosti ADAMTS13 koristi se sljedeći pristup. Prvo, testirana plazma se inkubira sa supstratom kojeg čine multimeri vWF-a pune duljine ili peptidi koji sadrže mjesto cijepanja ADAMTS13. Tijekom ovog procesa, ADAMTS13 proteolizira supstrat u testiranoj plazmi. Drugi korak je detekcija i kvantificiranje rezultirajućeg produkta, što je razmjerno aktivnosti ADAMTS13 u plazmi. Metode detekcije mogu biti direktne i mjeriti razinu produkta cijepanja ili indirektne ukoliko mjere razinu rezidualnog vWF-a. Izmjerena vrijednost se prikazuje kao postotak normalne prikupljene plazme koja je kalibrirana i definirana na 100% aktivnosti. Najčešće metode koje se koriste su eseji koji vežu kolagen te metode temeljene na energiji prijenosa fluorescentne rezonancije (FRET).

Iako ovi eseji pomažu u razlikovanju TTP-a od ostalih TMA, imaju svoja ograničenja. Teška hiperbilirubinemija interferira sa FRET esejima. Da sa taj problem nadvlada, može se razrijediti plazma i na taj način smanjiti koncentraciju bilirubina, ali s mogućim gubitkom osjetljivosti testa. Alternativno, može se koristiti nefluorogeni esej radi verificiranja rezultata. Idealno bi bilo uzeti uzorak plazme prije započinjanja TPE, međutim uzorci prikupljeni i do 3 dana nakon dnevne izmjene plazme još uvijek imaju dijagnostičku vrijednost u TTP-u. Prisutnost teškog nedostatka ADAMTS13 u bolesnika kod kojeg se sumnja na TTP, snažno ide u prilog toj dijagnozi.<sup>6</sup>

Eseji za utvrđivanje prisutnosti autoantitijela na ADAMTS13 su nužni da bi se razlikovalo iTTP od cTTP-a. Većina autoantitijela su IgG izotipa i mogu se kvantificirati koristeći ELISA metodu. Međutim, količina autoantitijela nije dovoljna da se utvrdi njihova inhibirajuća

funkcija. Manji postotak autoantitijela ne neutralizira ADAMTS13, već se smatra da su uključeni u njegovo otklanjanje iz plazme. Da bi se utvrdila inhibirajuća funkcija, korisni su eseji poput Bethesda.<sup>8</sup>

Negativni rezultat na esejima za detekciju inhibitora može se javiti u slučajevima niskog titra inhibirajućih antitijela, ne-neutralizirajućih antitijela ili nedavne transfuzije krvi koja neutralizira antitijela. Dakle, negativan rezultat na esejima za detekciju inhibitora ne isključuje dijagnozu iTTP-a. U nekih bolesnika s TTP-om, antitijela koja se ne utvrde u početku, mogu se pronaći u praćenju ili relapsu. Ukoliko nalazi na esejima za utvrđivanje inhibirajućih antitijela ostanu negativni unatoč perzistentnom teškom nedostatku ADAMTS13, treba se provesti sekvencioniranje ADAMTS13 radi isključivanja cTTP-a.<sup>6</sup>

### 6.3. ISTH smjernice u dijagnostici TTP-a

Smjernice temeljene na dokazima od strane Međunarodnog udruženja za trombozu i hemostazu (engl. International Society on Thrombosis and Haemostasis - ISTH) donešene su s namjerom da se pruži podrška u donošenju odluke oko dijagnostike i terapije akutnog TTP-a.<sup>9</sup> ISTH je 2018. formirao multidisciplinarni panel koji je uključivao hematologe, intenziviste, nefrologe, kliničke patologe, biostatističare i predstavnike bolesnika kao i metodološki tim.

Panel se složio oko tri glavne preporuke koje se odnose na inicijalnu dijagnostiku, s naglaskom na važnost testiranja aktivnosti ADAMTS13 te procjene vjerojatnosti TTP-a kliničkim putem, odnosno korištenjem modela „PLASMIC score“ ili „French score“. Dostupnost i vrijeme u kojem se dobivaju rezultati navedenih pretraga mogu utjecati na ranu dijagnozu i terapiju, naročito kod upotrebe kaplacizumaba. Preporuča se koristiti ove smjernice u dijagnostici i terapiji odraslih bolesnika u kojih se sumnja na TTP. Ukoliko se koriste u pedijatrijskih bolesnika, to treba biti učinjeno s posebnim oprezom. Panel je postavio prioritete u inicijalnim dijagnostičkim koracima uključenim u postavljanje dijagnoze TTP-a tijekom sumnje na prvu akutnu epizodu.

Utvrđena su tri glavna moguća dijagnostička smjera: smjer u kojem je testiranje ADAMTS13 dostupno unutar 72 sata, smjer u kojem testiranje ADAMTS13 nije dostupno te smjer u kojem je testiranje ADAMTS13 dostupno, ali s odgodom (nakon 72 sata, ali u manje od 7 dana). Sva tri smjera se mogu primijeniti na bolesnike s kliničkom slikom TMA i sumnjom na TTP. Prema tome, ciljna populacija bolesnika su oni sa brojem trombocita  $<100 \times 10^9/L$ , MAHA-om te relativno sačuvanom bubrežnom funkcijom.<sup>9</sup> MAHA je obilježena nalazom hemoglobina i hematokrita ispod donje granice referentnih vrijednosti, niskom razinom haptoglobina, povišenom razinom LDH te prisutnošću shistocita u



perifernom krvnom razmazu. Procjena vrijednosti modela procjene kliničkog rizika poput „PLASMIC score“ ili “French score“ je izvan opsega ovih smjernica. Istaknuto je da su navedeni modeli predviđeni za odraslu populaciju bez komorbiditeta poput sepse, raka, trudnoće, transplantacije tkiva i sl. To znači da bi moglo biti neprikladno koristiti navedene modele u procjeni rizika djece te u bolesnika sa komorbiditetima.

Panel preporuča uzeti uzorak plazme za potrebe testiranja ADAMTS13 prije započinjanja primjene TPE ili druge terapije za TTP.

Naposljetku, panel uvjetno preporuča primjenu TPE i kortikosteroida u svih bolesnika u kojih postoji temeljita sumnja na TTP neovisno o dostupnosti testiranja aktivnosti ADAMTS13.<sup>9</sup>

## 7. Liječenje

### 7.1. Terapijska izmjena plazme i infuzija plazme

Terapijska izmjena plazme (TPE) ili plazmafereza se koristi u liječenju iTTP-a i cTTP-a. U liječenju cTTP-a najčešće se bolesnicima daju infuzije plazme kojima se nadomješta nedostatak ADAMTS13. Iskustvo s ovakvom terapijom je povoljno, čak i u slučaju težih simptoma, a koristi se doza od 20-40 mL/kg.<sup>5</sup> Provođenjem TPE izmjenjuju se velike količine volumena plazme u organizmu. Ovaj postupak povećava aktivnost ADAMTS13 i otklanja anti-ADAMTS13 autoantitijela, imunokomplekse, multimerne vWF-a velike molekularne težine te upalne citokine. Uvođenje TPE u osamdesetim godinama 20. stoljeća dovelo je do značajnog poboljšanja prognoze TTP-a.<sup>3</sup>

TPE se najčešće izvodi u jedinici intenzivne njege gdje se mogu provesti sve suportivne mjere ukoliko bude potrebno. Mogu se koristiti dva oblika odvajanja plazme – centrifugiranje ili filtracija. Nije dokazana bolja učinkovitost jednog oblika u odnosu na drugi i izbor se treba temeljiti na iskustvu medicinskog tima te dostupnosti. TPE se provodi na dnevnoj bazi do oporavka broja trombocita ( $>150 \times 10^9/L$  kroz minimalno dva dana), pada razine LDH i kliničkog poboljšanja. Nakon što su postignuti navedeni ciljevi, TPE se prestaje primjenjivati.<sup>10</sup>

Tijekom svakog ciklusa TPE, volumen plazme koji se izmjeni kreće se od 1,5 puta procijenjene količine plazme bolesnika na početku terapije do 1,0 puta te količine naknadno. Postoje snažna uvjerenja da se kao zamjenska tekućina treba koristiti egzogena plazma. Prije svega, time se povećava količina infundiranog ADAMTS13. Osim toga, korištenje ostalih zamjenskih tekućina poput otopine albumina ili sintetskih koloida povezuje se sa poremećajima zgrušavanja, s obzirom da se time ne nadomještaju faktori zgrušavanja. Ovo bi moglo, zajedno sa teškom trombocitopenijom, dovesti do životno ugrožavajućih krvarenja.

Ipak, korištenje zamjenske tekućine sa 50% udjela otopine albumina i 50% udjela plazme dalo je rezultate usporedne s onima pri korištenju same plazmatske tekućine.<sup>10</sup>

U terapiji cTTP-a, najčešće su dovoljne infuzije plazme, no ponekad može biti potrebno i nekoliko ciklusa TPE za tretiranje akutne epizode. Nakon prve epizode cTTP-a, mogu se javiti učestali relapsi i nekim bolesnicima je potrebno davati redovite infuzije plazme svaka 2-3 tjedna da bi se održao normalan broj trombocita i spriječila klinička manifestacija bolesti.<sup>3</sup>

## 7.2. Kortikosteroidi

S obzirom na autoimunosnu prirodu iTTP-a, kortikosteroidi mogu biti korisni u liječenju istog. Nakon uvođenja kortikosteroida kao dodatne terapije uz TPE, smanjen je broj ciklusa TPE potreban za postizanje remisije, kao i komplikacija povezanih s liječenjem. Sveukupno, podaci upućuju na to da su kortikosteroidi u kombinaciji sa TPE korisni u liječenju iTTP-a.<sup>3</sup>

U bolesnika koji razviju TTP, koriste se visoke doze kortikosteroida u inicijalnom terapijskom režimu. Primjenjuje se doza prednizona od 1 mg/kg na dan peroralno ili metilprednizolon intravenski u ekvivalentnoj dozi. Ukoliko broj trombocita ne poraste unutar 3-4 dana od početka terapije, koriste se veće doze. Visoke doze se daju do oporavka broja trombocita i prestanka primjene TPE. Kad je razina trombocita održana, a tipično je to nakon 5-7 dana, doza kortikosteroida se smanjuje i njihova primjena se ukida kroz 3 tjedna. Smanjivanje doze se može odgoditi ili usporiti ovisno o broju trombocita, nalazu aktivnosti ADAMTS13 i/ili neurološkim simptomima.<sup>11</sup>

### 7.3. Rituksimab

Rituksimab, humanizirano anti-CD20 monoklonalno antitijelo, izvorno je razvijen za tretiranje B staničnih non-Hodgkinovih limfoma. Kao metoda liječenja iTTP-a prvi put je predstavljen u bolesnika sa suboptimalnim odgovorom na konvencionalnu terapiju, s ciljem suprimiranja stvaranja anti-ADAMTS13 autoantitijela. Suboptimalni odgovor se definira kao refrakternost ili egzacerbacija bolesti, a obilježen je rekurentnom trombocitopenijom tijekom perioda dnevnog provođenja TPE ili unutar 30 dana od prestanka primjenjivanja TPE. U ovih bolesnika, dnevna primjena TPE je obično nastavljena, a rituksimab je uveden periodično nakon ciklusa TPE, obično 4 doze u tjednim intervalima, iako postoje i drukčije sheme doziranja. Rituksimab je povezan s brзом i značajnom deplecijom B limfocita, češćim oporavkom aktivnosti ADAMTS13 te učinkovitijom deplecijom anti-ADAMTS13 autoantitijela. Da bi se spriječilo pretjerano korištenje, važno je imati na umu da se barem polovica bolesnika može oporaviti od akutne epizode iTTP-a sa standardnom terapijom koja uključuje TPE i kortikosteroide.<sup>3</sup>

Svaki relaps TTP-a izlaže bolesnika riziku od smrti i komplikacija povezanih s primjenom TPE te hospitalizacijom u jedinicama intenzivne njege. Upotreba rituksimaba u akutnim fazama bolesti je značajno smanjila učestalost relapsa u godini dana. Ako je dostupno testiranje, u praksi se prati razina ADAMTS13 svaka 3 mjeseca. Nakon što je nekoliko nalaza bilo uredno kroz 3 godine (s aktivnošću ADAMTS13 >50%), mjerenja se rade dvaput godišnje kroz dvije godine i zatim jednom godišnje. Kad aktivnost ADAMTS13 postane <10%, primjenjuje se jedna infuzija rituksimaba u dozi od 375 mg/m<sup>2</sup>. U većine bolesnika, nakon toga aktivnost postaje detektibilna ili normalizirana i do 4-6 tjedana nakon primjene. Međutim, u čak do polovice bolesnika, oporavak aktivnosti ADAMTS13 je prolazan i ponovno pada sa rekonstitucijom perifernih B limfocita. Kao posljedica, mogu biti potrebne daljnje primjene rituksimaba da bi aktivnost ostala detektibilna te da se spriječe klinički

relapsi. Bolesnici s perzistentnim i teškim nedostatkom ADAMTS13 su izloženi višem riziku od relapsa. Štoviše, 10-15% bolesnika isprva ne odgovori na terapiju rituksimabom ili razvije refraktornost nakon inicijalnog odgovora.<sup>12</sup> U ovim slučajevima, mogao bi pomoći intenzivniji režim poput onih koji se koriste u liječenju limfoidnih malignih bolesti, a sastoje se od redovitih infuzija kroz 4-6 tjedana i/ili terapije održavanja primjenom 4 infuzije godišnje kroz dvije godine.

## 7.4. Kaplacizumab

Kaplacizumab je nanočestica koja ciljno djeluje na A1 domenu vWF-a sprječavajući njegovu interakciju sa glikoproteinskim receptorima na trombocitima. U trećoj fazi ispitivanja ovog lijeka, uočeno je da je bolesnicima s TTP-om koji dobivaju kaplacizumab potrebno kraće vrijeme za normalizaciju broja trombocita u odnosu na placebo skupinu. Pretpostavka je da se navedeno događa zbog sprječavanja trošenja trombocita za stvaranje mikrotromba. Također, u usporedbi s placebo grupom, ispitanicima koji su dobivali kaplacizumab utvrđena je smanjena incidencija smrtnih ishoda, smanjena rekurentnost bolesti te smanjena incidencija tromboembolijskih događaja tijekom vremena ispitivanja lijeka. Egzacerbacije se događaju i do 25 dana od završetka primjene TPE.<sup>13</sup> Smatra se da bi zbog te činjenice bilo potrebno primjenjivati kaplacizumab još barem 30 dana nakon normalizacije broja trombocita, s obzirom da su bolesnici u tom periodu pod povećanim rizikom. Smrtni ishod kod bolesnika s TTP-om se događa primarno tijekom akutne faze, kao rezultat nekontroliranog stvaranja mikrovaskularnih ugrušaka. Konvencionalna terapija koja uključuje TPE te imunosupresiju obnavlja razinu funkcionalnog ADAMTS13 enzima i kontrolira podležeće autoimune mehanizme, ali ne djeluje direktno na mikrovaskularnu trombozu. Kaplacizumab blokira adheziju multimeričkog vWF-a i trombocita, što je važan korak u sprečavanju formiranja ugrušaka.<sup>13</sup>

Kaplacizumab može značajno smanjiti teret njege bolesnika s TTP-om smanjujući broj potrebnih ciklusa TPE, duljinu trajanja boravka u bolnici i u jedinicama intenzivnog liječenja. Manja krvarenja su česta u bolesnika tretiranih kaplacizumabom, ali ipak nema zabilježenih većih ili fatalnih krvarenja. Potrebna su dodatna istraživanja po pitanju sigurnosti primjene ovog lijeka kad je u pitanju rizik od krvarenja. Ovo se naročito odnosi na bolesnike tretirane konkomitantno antikoagulantima i na bolesnike koji dobivaju kaplacizumab kroz period duži od 30 dana.

## 7.5. Ostale terapijske mogućnosti

Već nekoliko desetljeća, osnovna metoda liječenja TTP-a je TPE i kortikosteroidi, što je dovelo do poboljšanja prognoze ove bolesti. Unatoč tome, čak i s primjenom rituksimaba, događaju se smrtni ishodi u ranoj fazi bolesti. Glavni razlog je odgođena učinkovitost rituksimaba, odnosno vrijeme od 2 tjedna koje je potrebno od davanja lijeka da pokaže učinak. U bolesnika s refrakternom bolešću i znakovima zatajenja organa mogu se razmotriti dodatni terapijski pristupi, naročito u periodu od 2 tjedna nakon primjene rituksimaba.<sup>14</sup>

U takvim situacijama se može razmotriti splenektomija te pulsne doze ciklofosfamida. Učinkovitost je prijavljivana u manjim serijama slučajeva i to prije ere rituksimaba. Splenektomija se u iTTP-u uglavnom provodila kod kroničnih relapsirajućih bolesnika. Bolesnici su se često oporavljali, ali u periodu neposredno nakon postupka prijavljivane su i egzacerbacije, kao i fatalni postoperativni ishodi. To predstavlja izazov po pitanju sigurnosti ove procedure te navodi na ograničavanje indikacija u vrlo specifičnim slučajevima. Podaci o korištenju ciklofosfamida kao spasonosne terapije u refrakternom obliku iTTP-a veoma su oskudni, ali navode na to da bi ciklofosfamid mogao biti učinkovit u životno ugroženih bolesnika.

Učinkovitost ciklofosfamida u liječenju TTP-a se objašnjava njegovim limfoablativnim te imunomodulatornim učincima. Pretpostavlja se da se splenektomijom uklanjaju memorijske B stanice čime se ograničava lučenje anti-ADAMTS13 antitijela. Uklanjaju se i fagocitne stanice slezene uključene u fagocitozu opsoniziranog ADAMTS13. Za splenektomiju je vjerojatno da pridonosi cirkuliranju većeg broja trombocita, s obzirom da slezena služi kao rezervoar oko jedne trećine ukupnih trombocita u tijelu. Međutim, postupak vjerojatno ne smanjuje povećanu sklonost agregaciji trombocita te formiranju mikrotromba.



Česta komplikacija u ovih bolesnika je bakterijemija, što se smatra posljedicom provođenja imunosupresivne terapije kortikosteroidima, rituksimabom, splenektomijom i ciklofosfamidom. Ova terapija bi se trebala razmatrati u bolesnika koji ne pokazuju poboljšanje na standardnu terapiju koja uključuje TPE, kortikosteroide i rituksimab, a imaju teški nedostatak ADAMTS13 posredovan antitijelima.<sup>14</sup>

Prema nekim zabilježenim slučajevima, lijek koji bi mogao imati učinka na refrakterni oblik iTTP-a je bortezomib, inhibitor proteasoma. Prepostavlja se da je njegov mehanizam djelovanja u iTTP-u inhibicija stvaranja autoantitijela putem apoptoze B limfocita i plazma-stanica. S druge strane, rituksimab uništava B limfocite koji izražavaju biljeg CD20, ali ne i plazma-stanice. Ne postoji dovoljno pouzdanih podataka prema kojima bi se terapija bortezomibom mogla preporučiti za liječenje refrakternog oblika iTTP-a. Ipak, nekolicina prijavljenih slučajeva pokazuje da su refrakterni oblici tretirani plazmaferezom, kortikosteroidima i rituksimabom povoljno reagirali na liječenje bortezomibom.<sup>15</sup>

Vinkristin je jedan od mogućih dodataka TPE u liječenju relapsirajućeg ili refrakternog oblika TTP-a. Podaci o upotrebi tog lijeka su ograničeni na nekoliko nerandomiziranih studija, uključujući većinom izvješća o slučajevima i manjim serijama slučajeva. Pretpostavlja se da bi bolesnici sa teškim nedostatkom ADAMTS13 i visokim titrom inhibitora mogli profitirati od liječenja vinkristinom. Potrebne su daljnje studije da bi se procijenila uloga ove terapije u bolesnika s TTP-om.<sup>16</sup>

Koncentrati faktora VIII (FVIII) i vWF-a dobiveni kao derivati plazme sadrže određenu količinu ADAMTS13. Koristili su se kao terapija u određenim slučajevima cTTP-a. Ipak, ne preporuča se njihova upotreba zbog varijabilne koncentracije FVIII u različitim koncentratima i zbog nejasnog mehanizma djelovanja u liječenju cTTP-a.<sup>17</sup>

## 7.6. Rekombinantni ADAMTS13

Nova potencijalna terapijska opcija za cTTP i iTTP je rekombinantni ADAMTS13 (rADAMTS13). Uvođenje novih terapijskih mogućnosti poput rADAMTS13 bi moglo poboljšati standard njege ovih bolesnika, a razloga je više. Ne postoje trenutno odobreni lijekovi za tretiranje cTTP-a. U akutnim epizodama bolesnicima se daje infuzija svježe smrznute plazme. U pojedinih bolesnika se koristio koncentrat FVIII i vWF-a, s obzirom da se pokazalo da sadrži manju količinu ADAMTS13. Terapija infuzijom plazme je uglavnom učinkovita u ovih bolesnika, ali često je komplicirana alergijskim reakcijama ili preopterećenjem volumenom i nosi rizik od infekcija koje se prenose putem krvi. Također, infuzije plazme predstavljaju opterećenje bolesniku i mogu biti iznimno stresne za mlađe bolesnike.

U prvoj fazi istraživanja ovog lijeka na ljudima ispitala se sigurnost, uključujući imunogenost, tolerabilnost te farmakokinetiku u bolesnika kojima je dijagnosticiran teški kongenitalni nedostatak ADAMTS13. Utvrđeno je da se rADAMTS13 ponaša jednako kao i endogeni ADAMTS13. Nakon primjene rADAMTS13, uočen je porast aktivnosti ADAMTS13 u odnosu na razinu prije davanja lijeka. Zasad se smatra sigurnim i dobro toleriranim u dozi 5-40 U/kg u bolesnika s cTTP-om. Nisu uočeni znakovi imunološkog odgovora na lijek nakon infuzije. Primjećeni su pozitivni učinci na multimer VWF-a, broj trombocita i razinu serumskog LDH. Navedeni podaci predstavljaju temelj za provođenje treće faze istraživanja.<sup>18</sup>

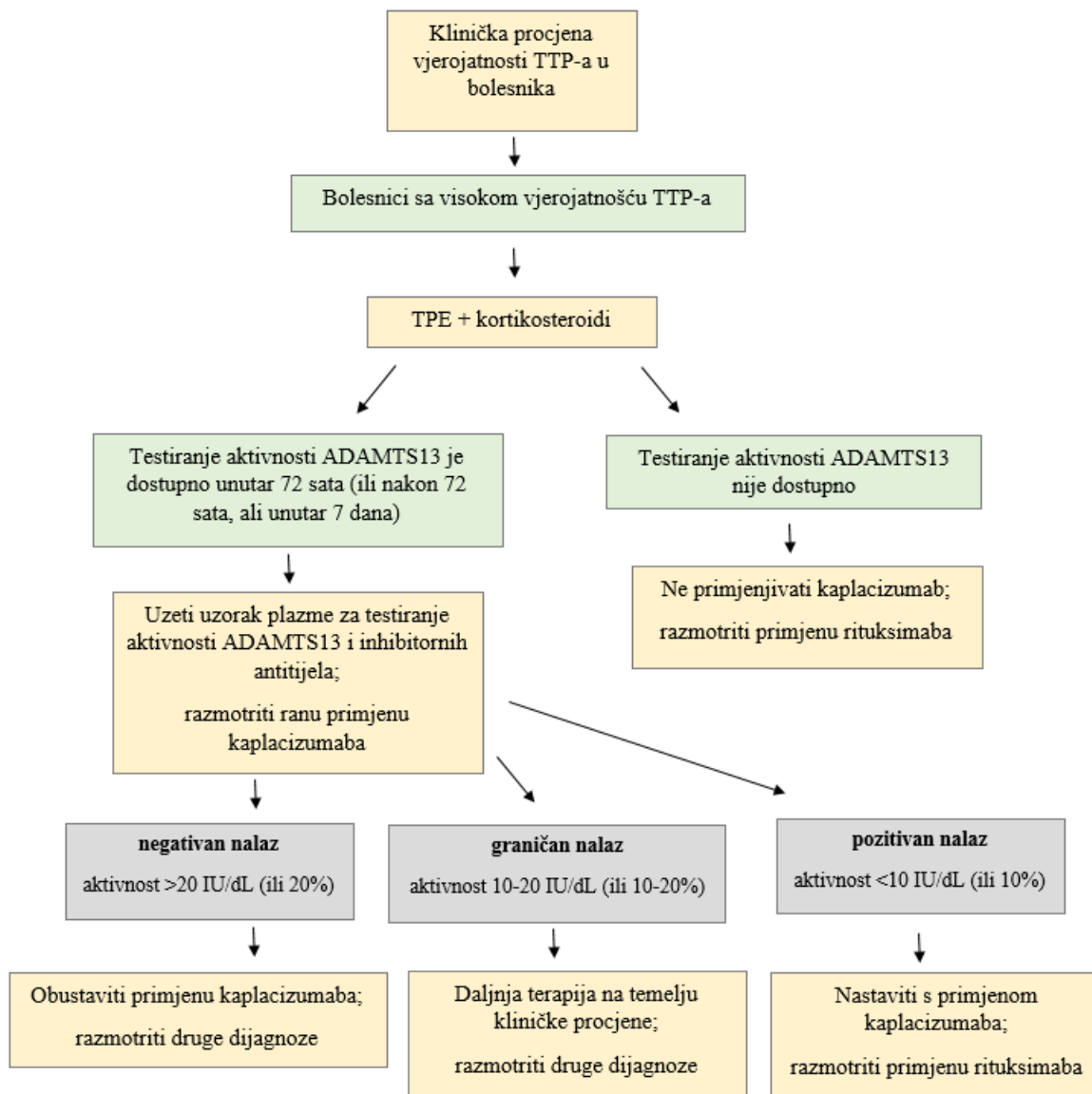
Postoje podaci prema kojima se rADAMTS13 može *ex vivo* procesom endocitoze unositi u trombocite. Transfuzija takvih trombocita potencijalno može smanjiti stvaranje arterijskih ugrušaka u bolesnika s iTTP-om i cTTP-om. Pretpostavlja se da bi enzim na takav način mogao biti zaštićen od djelovanja inhibitornih autoantitijela u bolesnika s iTTP-om.<sup>19</sup>

## 7.7. ISTH smjernice u liječenju TTP-a

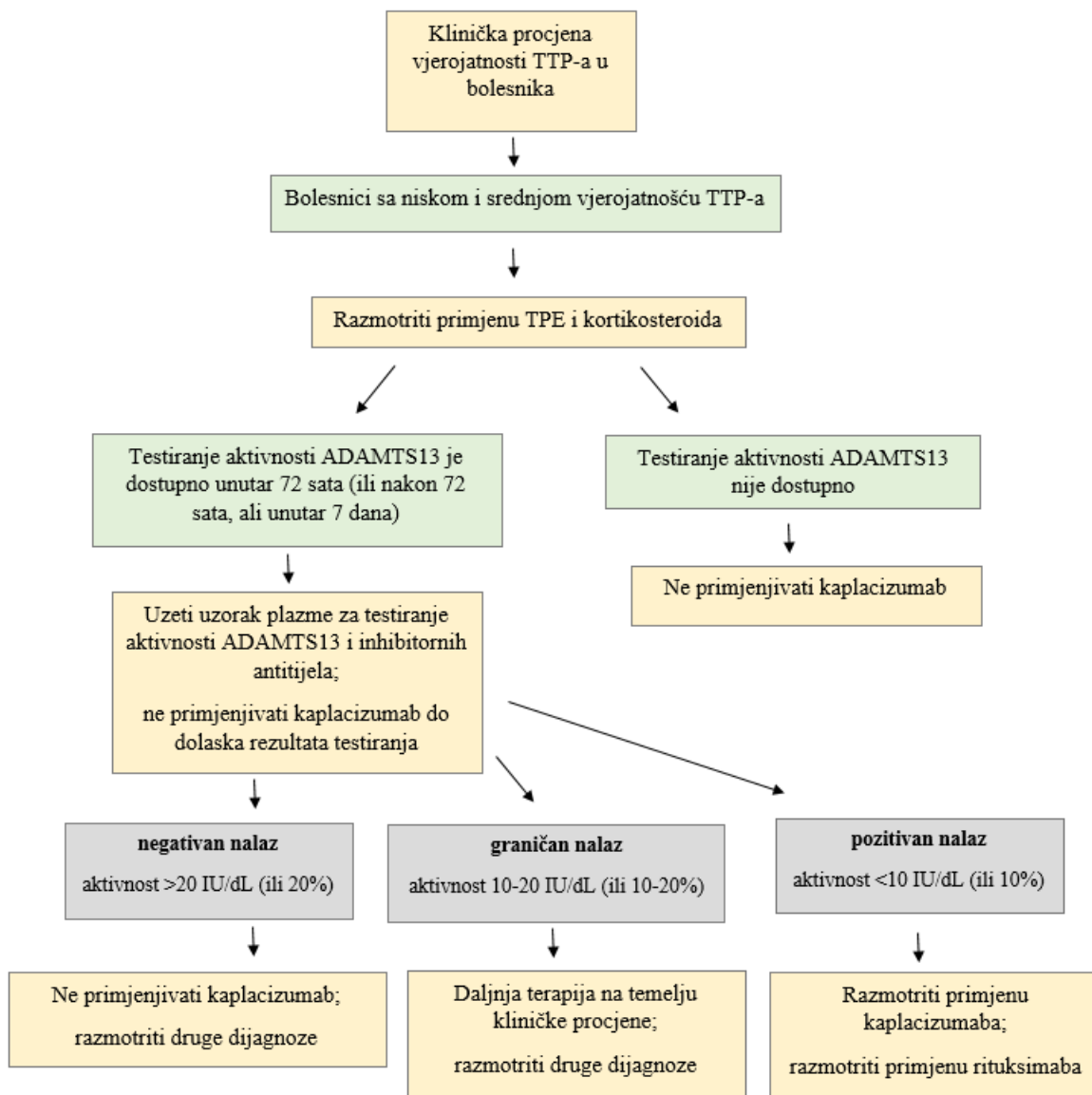
Pri liječenju prve epizode iTTP-a, ISTH snažno preporuča dodati kortikosteroide terapijskoj izmjeni plazme (TPE). Ova intervencija snižava smrtnost, dok same nuspojave kratkotrajnog korištenja kortikosteroida nisu teške. S obzirom na poznate srčane, endokrinološke i neuropsihijatrijske nuspojave kortikosteroida, posebna pažnja se treba dati podložnoj populaciji. To se odnosi na bolesnike s poznatom hipertenzijom, šećernom bolesti, psihijatrijskim komorbiditetima te onima u uznapredovaloj dobi.<sup>17</sup>

Uz TPE i kortikosteroide, uvjetno se preporuča dodati rituksimab u liječenje prve epizode TTP-a. ISTH panel ističe da je primarni učinak rituksimaba prevencija relapsa. Kliničari trebaju razmotriti da je prisutnost komorbiditetnih autoimunskih poremećaja među činjenicama koje idu u prilog korištenja rituksimaba. Također, rituksimab se preporuča dodati i u liječenju relapsa iTTP-a uz primjenu TPE i kortikosteroida.

Za bolesnike s iTTP-om koji razviju akutnu epizodu bolesti (prvu epizodu ili relaps), preporuča se upotreba kaplacizumaba. Studije su pokazale da kaplacizumab smanjuje pojavnost recidiva unutar 30 dana od prestanka TPE. Upotreba monoterapije kaplacizumabom može bolesnike učiniti podložnima za kasnije ponavljanje bolesti zbog neriješenog nedostatka ADAMTS13 i djelovanja inhibitornih antitijela. Dakle, potrebna je i dalje imunosupresivna terapija poput kortikosteroida ili rituksimaba da bi se utjecalo na podležeci uzrok bolesti. Dobrobiti kaplacizumaba su najizraženije ukoliko se koristi u ranoj fazi akutne epizode bolesti.



Slika 1. Predložena dijagnostička i terapijska strategija u pacijenata sa visokom vjerojatnošću TTP-a.<sup>9</sup>



Slika 2. Predložena dijagnostička i terapijska strategija u pacijenata sa niskom i srednjom vjerojatnošću TTP-a.<sup>9</sup>

Bolesnicima s iTTP-om u remisiji, ali s niskom aktivnošću ADAMTS13 bez kliničkih znakova ili simptoma, panel preporuča upotrebu rituksimaba u profilaksi. Izgledno je da upotreba rituksimaba ne utječe na preživljenje, međutim podaci upućuju na to da bolesnici koji dobivaju ovaj lijek imaju manju pojavnost relapsa i duže vrijeme je potrebno da se relaps razvije. Istaknuto je da se ova preporuka ne može ostvariti u svim centrima i nije prihvatljiva svim bolesnicima. Provođenje profilaktičke terapije rituksimabom tijekom remisije bez pristupa testiranju aktivnosti ADAMTS13 nije strategija temeljena na dokazima, što može voditi u potencijalno pretjeranu upotrebu ovog lijeka.

Bolesnicima s cTTP-om u remisiji, preporuča se infuzija plazme ili oprezna opservacija. S obzirom na odsutnost pouzdanih podataka i manjak razumijevanja mehanizma djelovanja, ne preporuča se upotreba koncentrata FVIII u većine bolesnika s cTTP-om u remisiji.

Za bolesnice koje su trudne, a imaju iTTP, sniženu razinu plazmatske aktivnosti ADAMTS13 uz odsutne kliničke znakove ili simptome TTP-a, preporuča se profilaktička upotreba TPE. Trudne bolesnice sa smanjenom razinom aktivnosti ADAMTS13 mogu imati loše kliničke ishode. Unatoč manjku podataka o učinku dostupnih terapijskih režima, donešena je snažna preporuka o profilaktičkoj terapiji zbog uvjerenja da svaka intervencija može pomoći u smanjenju smrtnosti majke i novorođenčeta. Dobrobiti i rizici profilaktičke terapije tijekom trudnoće zahtjevaju daljnje studije.

Trudnicama koje imaju cTTP, također se preporuča profilaktička terapija iz istih razloga kao i trudnicama sa iTTP-om. Preporuča se upotreba infuzije plazme umjesto koncentrata FVIII. Razlog tome je nedovoljno podataka o dobrobiti korištenja koncentrata FVIII u ovih bolesnica.<sup>17</sup>

## 8. Zaključak

U zaključku, TTP je rijetka ali životno ugrožavajuća bolest na koju se treba uvijek posumnjati kod mikroangiopatske hemolitičke anemije s trombocitopenijom. Bolest ima šaroliku kliničku sliku s ishemijom i trombozama različitih organa, potrebna je žurna dijagnostička obrada i hitno liječenje kako bi se spriječila inače visoka smrtnost.

## 9. Zahvale

Prvenstveno se želim zahvaliti svom mentoru izv.prof.dr.sc. Draženu Pulaniću na usmjeravanju, savjetima i strpljenju tijekom izrade ovog rada.

Hvala mojoj obitelji koja me podržavala sve ove godine. U prvom redu mojim roditeljima Marici i Šimi s kojima dijelim ovaj uspjeh. Vaša ljubav i žrtva su bile neiscrpan izvor motivacije.

Zahvaljujem Toniju na čvrstoj podršci još od gimnazijskih dana.

Želim se zahvaliti i svima ostalima koji su me podržavali, kao i kolegama što smo si međusobno uvijek pomagali.



## 10. Popis literature

1. Stanley M, Killeen RB, Michalski JM. Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [cited 2022 Jun 6]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430721/>
2. Sukumar S, Lämmle B, Cataland SR. Thrombotic thrombocytopenic purpura: Pathophysiology, diagnosis, and management. *J Clin Med*. 2021;10(3):1–24.
3. Kremer Hovinga JA, Coppo P, Lämmle B, Moake JL, Miyata T, Vanhoorelbeke K. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nat Rev Dis Primer*. 2017;3:1–17.
4. Nuñez Zuno JA, Khaddour K. Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Evaluation and Management. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [cited 2022 Jun 6]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470585/>
5. Knöbl P. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Memo - Mag Eur Med Oncol*. 2018;11(3):220–6.
6. Chiasakul T, Cuker A. Clinical and laboratory diagnosis of TTP: An integrated approach. *Hematol U S*. 2018;2018(1):530–8.
7. Li A, Khalighi PR, Wu Q, Garcia DA. External validation of the PLASMIC score: A clinical prediction tool for thrombotic thrombocytopenic purpura diagnosis and treatment. *J Thromb Haemost JTH*. 2018 Jan;16(1):164–9.
8. Masias C, Cataland SR. The role of ADAMTS13 testing in the diagnosis and management of thrombotic microangiopathies and thrombosis. *Blood*. 2018;132(9):903–10.
9. Zheng XL, Vesely SK, Cataland SR, Coppo P, Geldziler B, Iorio A, i sur. ISTH guidelines for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost JTH*. 2020 Oct;18(10):2486–95.
10. Picod A, Provôt F, Coppo P. Therapeutic plasma exchange in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Presse Médicale*. 2019 Nov;48(11):319–27.
11. Zheng XL, Vesely SK, Cataland SR, Coppo P, Geldziler B, Iorio A, i sur. Good practice statements (GPS) for the clinical care of patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost*. 2020 Oct;18(10):2503–12.
12. Coppo P, Cuker A, George JN. Thrombotic thrombocytopenic purpura: Toward targeted therapy and precision medicine. *Res Pract Thromb Haemost*. 2019;3(1):26–37.

13. Scully M, Cataland SR, Peyvandi F, Coppo P, Knöbl P, Kremer Hovinga JA, i sur. Caplacizumab Treatment for Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *N Engl J Med*. 2019 Jan 24;380(4):335–46.
14. Beloncle F, Buffet M, Coindre JP, Munoz-Bongrand N, Malot S, Pène F, i sur. Splenectomy and/or cyclophosphamide as salvage therapies in thrombotic thrombocytopenic purpura: the French TMA Reference Center experience: SALVAGE THERAPIES IN SEVERE TTP. *Transfusion (Paris)*. 2012 Nov;52(11):2436–44.
15. Hernández Lorente E, Lluch García R, Monteagudo Santolaya E. Effectiveness of bortezomib in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura: Case report. *Med Clínica Engl Ed*. 2019 Mar;152(6):244–5.
16. Öngören Ş, Salihoğlu A, Apaydın T, Sadri S, Eşkazan AE, Ar MC, i sur. Vincristine as an Adjunct to Therapeutic Plasma Exchange for Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: A Single Institution Experience. *Balk Med J [Internet]*. 2018 Jul 2 [cited 2022 Jun 21]; Available from: <http://www.balkanmedicaljournal.org/pdf.php?&id=2021>
17. Zheng XL, Vesely SK, Cataland SR, Coppo P, Geldziler B, Iorio A, i sur. ISTH guidelines for treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost*. 2020;18(10):2496–502.
18. Scully M, Knöbl P, Kentouche K, Rice L, Windyga J, Schneppenheim R, i sur. Recombinant ADAMTS-13: First-in-human pharmacokinetics and safety in congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 2017;130(19):2055–63.
19. Abdelgawwad MS, Cao W, Zheng L, Kocher NK, Williams LA, Zheng XL. Transfusion of platelets loaded with recombinant ADAMTS13 is efficacious for inhibiting arterial thrombosis in mice and in human. 2019;28.

## 11. Životopis

Rođena sam 10. svibnja 1996. u Zadru. Odrasla sam u Biogradu na Moru gdje sam pohađala Osnovnu školu Biograd 2003.-2011. godine. Pohađala sam opći gimnazijski smjer u Srednjoj školi Biograd na Moru 2011.-2015. godine kao učenica s odličnim uspjehom. Nakon maturiranja, 2015. godine upisala sam Medicinski fakultet u Zagrebu. Aktivno se služim engleskim, pasivno talijanskim jezikom.