

Leczenie chorych na niedokrwistość aplastyczną

Treatment of patients with aplastic anemia

Kazimierz Hałaburda, Agnieszka Tomaszewska

Klinika Transplantacji Komórek Krwiotwórczych, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Streszczenie

Poglądy na leczenie chorych na niedokrwistość aplastyczną uległy w ostatnich latach dużym przeobrażeniom. Znajduje to uzasadnienie w znaczącej poprawie wyników przeszczepień krwiotwórczych komórek macierzystych, zarówno od dawców rodzinnych, jak i niespokrewnionych, oraz w zmianie zapatrywań na skuteczność leczenia immunosupresyjnego. W artykule przedstawiono aktualne możliwości terapeutyczne i zalecenia w tej zagrażającej życiu chorobie.

Hematologia 2013; 4, 3: 257–270

Słowa kluczowe: niedokrwistość aplastyczna, immunosupresja, przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych, leczenie wspomagające

Abstract

The concepts of treatment of patients with aplastic anemia have significantly evolved in recent years. This is due to improved outcomes of both family and unrelated donor hematopoietic stem cell transplantations as well as to revised results of immunosuppressive therapy. In this paper we present current treatment modalities and recommendations in this life-threatening disease.

Hematologia 2013; 4, 3: 257–270

Key words: aplastic anemia, immunosuppression, hematopoietic stem cell transplantation, supportive therapy

Wprowadzenie

Niedokrwistość aplastyczna (AA, *aplastic anemia*) jest rzadką, zagrażającą życiu chorobą. Zapadalność wynosi 1–2 przypadki/mln mieszkańców/rok w Europie i Ameryce Północnej oraz 5–6 przypadków/mln mieszkańców/rok w Azji [1, 2]. Niedokrwistość aplastyczną charakteryzuje pancytopenia we krwi obwodowej wtórna do aregeneracyjnej niewydolności krwiotworzenia. Etiologia choroby nie jest dostatecznie poznana. Za przyczynę nabytej AA uznaje się przede wszystkim procesy autoimmunizacyjne. Ustalenie rozpoznania

AA może niekiedy wymagać dłuższej obserwacji chorego, powtarzania badań i wnikliwej diagnostyki różnicowej. Sposób leczenia zależy od nasilenia objawów, wieku pacjenta i chorób współistniejących. Rozpoznanie ciężkiej postaci AA wymaga natychmiastowej hospitalizacji i specjalistycznej terapii.

Rozpoznanie i ocena nasilenia choroby

Podstawą rozpoznania AA jest stwierdzenie pancytopenii we krwi obwodowej i zaniku prawidłowego krwiotworzenia szpiku kostnego (BM, *bone marrow*) w trepanobiopsji, bez cech dysplazji.

Adres do korespondencji: Kazimierz Hałaburda, Klinika Transplantacji Komórek Krwiotwórczych, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, ul. Indiry Gandhi 14, 02–776 Warszawa, tel.: 22 349 63 43 lub 22 349 63 60, faks: 22 349 6361, e-mail: khalaburda@ihit.waw.pl

Komórkowość szpiku nie przekracza 25% normy dla wieku. W morfologii krwi obwodowej często zauważa się makrocytozę erytrocytów, liczbę limfocytów bliską prawidłowej, a we wczesnych fazach choroby — często mono- lub duocytopenię.

Nasilenie AA klasyfikuje się zależnie od wartości parametrów hematologicznych krwi obwodowej. Ciężką niedokrwistość aplastyczną (SAA, *severe aplastic anemia*) rozpoznaje się, gdy są spełnione co najmniej 2 z 3 następujących kryteriów: liczba retikulocytów poniżej 20 G/l, liczba płytek krwi (PLT, *platelets*) poniżej 20 G/l, liczba neutrofilii poniżej 0,5 G/l. Bardzo ciężka niedokrwistość aplastyczna (vSAA, *very severe aplastic anemia*) jest rozpoznawana, gdy są spełnione powyższe kryteria, a liczba neutrofilii nie przekracza 0,2 G/l. Nieciężką niedokrwistość aplastyczną (nSAA, *non-severe aplastic anemia*) rozpoznaje się, jeśli wartości parametrów krwi obwodowej są obniżone, ale nie spełniają kryteriów vSAA ani SAA [3, 4].

Diagnostyka różnicowa

Szczególną uwagę należy przykładać do diagnostyki różnicowej, ponieważ ostateczne rozpoznanie AA jest rozpoznaniem z wykluczenia. Przede wszystkim należy ocenić ewentualny wpływ leczenia, jakiemu ostatnio poddano chorego (np. chemio- i radioterapia, tyreostatyki, sole złota, leki przeciwdrgawkowe), kontaktu z substancjami potencjalnie mielotoksycznymi lub zakażeń, które chory przeżył. U dzieci i dorosłych w młodszym wieku konieczne jest wykluczenie wrodzonych zespołów, których objawy mogą odpowiadać obrazowi hipo- lub aplazji szpiku (niedokrwistość Fanconiego, wrodzona niedokrwistość hipoplastyczna, *dyskeratosis congenita* i in.). W tych przypadkach na właściwe rozpoznanie mogą naprowadzić stwierdzenie towarzyszących anomalii oraz prawidłowo zebrany wywiad od pacjenta lub jego rodziny [5].

Kolejną chorobą, w przebiegu której może dochodzić do aplazji, jest nocna napadowa hemoglobinuria (PNH, *paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*) spowodowana mutacjami genu *PIG-A*. Obraz kliniczny PNH może być różnorodny, obejmujący obok pancytopenii także zakrzepicę, hemolizę oraz brunatne zabarwienie moczu. Obecnie za standard w rozpoznawaniu PNH uznaje się cytometryczną ocenę ekspresji antygenów CD55 i CD59 na powierzchni granulocytów i erytrocytów z użyciem przeciwciał monoklonalnych. Czułość diagnostyki zwiększa zastosowanie znakowanej fluoresceiną aerolizyny [6]. Metoda ta pozwala wykryć niewielki klon PNH

u około 40% chorych z rozpoznaną SAA. Pacjenci ci z reguły nie mają objawów PNH, a odsetek komórek dotkniętych typowym defektem wynosi mniej niż 10% [7]. W tych przypadkach zalecana terapia jest taka sama jak w „czystej” SAA, choć po leczeniu immunosupresyjnym u części chorych obserwuje się ekspansję klonu PNH. Należy zauważyć, że nie określono ścisłych kryteriów różnicujących PNH i AA.

Problemem diagnostycznym może się także okazać odróżnienie AA od hipoplastycznej postaci zespołu mielodysplastycznego (MDS, *myelodysplastic syndrome*). Nasilenie pancytopenii w MDS jest zazwyczaj mniejsze niż w AA. Natomiast obecność niewielkich nawet cech dysplazji w poszczególnych liniach komórkowych, szczególnie w megakariocytach, lub włóknienie szpiku stwierdzane w trepanobiopsji, przemawiają przeciw rozpoznaniu AA. Oprócz oceny cytologicznej i patomorfologicznej wskazane jest badanie cytogenetyczne szpiku, które powinno się wykonać u wszystkich chorych. Niestety, u wielu z nich nie można uzyskać dostatecznej liczby i jakości metafaz do analizy. Aberracje chromosomowe, najczęściej trisomie, zwłaszcza chromosomu 8 lub 6, są znajdowane u kilkunastu procent chorych z AA, lecz ich znaczenia rokownicze nie określono [8]. Stwierdzenie zaburzeń dotyczących chromosomów 3, 5, 7 lub kilku aberracji jednocześnie wskazuje raczej na hipoplastyczny MDS. U chorych z podejrzeniem MDS, u których nie można przeprowadzić tradycyjnej analizy kariotypu, zaleca się badanie metodą hybrydyzacji *in situ* z wykorzystaniem odpowiednich sond molekularnych. W odróżnieniu AA od MDS może pomóc oznaczenie koekspresji antygenów CD45, HLA-DR, CD34 i CD117 w szpiku kostnym w celu precyzyjniejszej oceny odsetka blastów [9]. U 5–10% chorych SAA rozpoznaje się po idiopatycznym zapaleniu wątroby, zazwyczaj o znacznym nasileniu. Pacjentów tych poddaje się leczeniu na ogólnych zasadach, a jego wyniki są takie same jak u pozostałych chorych [10].

Leczenie

Leczenie chorych na AA obejmuje intensywne leczenie immunosupresyjne (IST, *immunosuppressive therapy*), allogeniczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT, *allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*), zastosowanie androgenów z jednoczesną immunosupresją lub bez niej oraz leczenie wspomagające. W aktualnych rekomendacjach dotyczących terapii jej wybór uzależnia się od nasilenia objawów, wieku chorego, dostępności zgodnego dawcy i schorzeń współistniejących. W praktyczny

sposób sformułowała je Grupa Robocza ds. Ciężkiej Anemii Aplastycznej (SAAWP, *Severe Aplastic Anemia Working Party*) Europejskiej Grupy ds. Przeszczepiania Krwi i Szpiku (EBMT, *European Group for Blood and Marrow Transplantation*) [11].

Ważnym elementem postępowania jest odpowiednie leczenie wspomagające dopasowane do bieżącej sytuacji klinicznej i potrzeb chorego. Na leczenie to składają się uzupełnianie składników krwi, profilaktyka przeciwnieinfekcyjna, stosowanie czynników wzrostu oraz leczenie ograniczające przeładowanie organizmu żelazem.

Leczenie immunosupresyjne

Surowica antylimfocytowa i antytymocytowa

Rekomendowane IST (immunoablacja) polega na zastosowaniu surowicy antytymocytowej i cyklosporyny A (CsA). Podanie surowicy prowadzi do głębokiej immunosupresji poprzez długotrwałe zmniejszenie liczby limfocytów T, trwające nawet kilka tygodni. Lek ten nie wpływa znacząco na reakcje odpornościowe zależne od produkcji przeciwciał. Dokładny mechanizm działania surowicy nie został poznany. Uważa się, że najważniejszą rolę odgrywa liza opłaszczonych przeciwciałami limfocytów T na drodze aktywacji dopełniacza oraz fagocytoza przez makrofagi.

W 2007 roku z europejskiego rynku farmaceutycznego wycofano końską surowicę antylimfocytową (*lymphoglobuline*), będącą niegdyś standardem leczenia pierwszej linii. W przypadku braku reakcji na leczenie pierwszoliniowe jako terapię drugiej linii zalecano surowicę króliczą (r-ATG, *rabbit antithymocyte globulin*). Obecnie tylko ten lek jest zarejestrowany w Europie w terapii SAA. W Stanach Zjednoczonych jest zarejestrowana antytymocytowa surowica końska (h-ATG, *horse antithymocyte globulin*). Jej dostępność w Polsce pozostaje znacznie ograniczona, ponieważ może być sprowadzana wyłącznie w ramach importu docelowego.

W 2011 roku ukazały się wyniki randomizowanego badania Narodowego Instytutu Zdrowia w Stanach Zjednoczonych (NIH, *National Institutes of Health*), które prowadzono w latach 2005–2010 i którym łącznie objęto 120 chorych w wieku od 2 do 77 lat. Porównano w nim skuteczność h-ATG i r-ATG. Po 6 miesiącach od zakończenia leczenia odpowiedź hematologiczna wyniosła 68% w odniesieniu do h-ATG i 37% w przypadku r-ATG ($p < 0,001$). Prawdopodobieństwo 3-letniego przeżycia całkowitego (OS, *overall survival*) było również istotnie lepsze w grupie leczonej h-ATG (94% v. 70%) [12].

W 2012 roku opublikowano wyniki badania SAAWP, w którym prospektywnie oceniono grupę 35 chorych leczonych r-ATG. Wyniki porównano następnie z historyczną grupą 105 chorych leczonych h-ATG. Grupę porównawczą dobrano pod względem wieku i nasilenia choroby. Końcowym punktem oceny w grupie leczonej r-ATG była odpowiedź hematologiczna po 6 miesiącach. Całkowitą remisję (CR) zaobserwowano u 3%, a częściową remisję (PR, *partial remission*) u 37% pacjentów. W grupie leczonej r-ATG wystąpiło 10 (28,5%) zgonów spowodowanych głównie powikłaniami infekcyjnymi. Porównując wyniki z grupą historyczną leczoną h-ATG, stwierdzono gorszą, choć nieznamienne statystycznie, odpowiedź na terapię (60% v. 67%) w okresie obserwacji wynoszącym 24 miesiące. Prawdopodobieństwo 2-letniego OS było istotnie niższe w grupie leczonej r-ATG niż h-ATG (68% v. 86%; $p = 0,009$) [13].

W badaniu z 2010 roku [14] autorzy brazylijscy retrospektywnie ocenili dwie grupy chorych: 42 pacjentów leczonych h-ATG w latach 2000–2005 i 29 pacjentów leczonych r-ATG od 2006 roku. Autorzy zaobserwowali wyższą skuteczność h-ATG w uzyskaniu odpowiedzi hematologicznej (całkowity odsetek odpowiedzi [ORR, *overall response rate*]) ocenianej jako CR + PR (59,5% v. 34,5%; $p = 0,05$). Prawdopodobieństwo OS po 2 latach także było większe u chorych leczonych h-ATG niż r-ATG (78,4% v. 55,4%; $p = 0,03$) [14].

Inne z badań retrospektywnych, których wyniki ostatnio publikowano, nie wskazują na istotnie różne efekty leczenia za pomocą h-ATG i r-ATG. W wyniku analizy danych 99 dorosłych chorych na SAA z jednego z ośrodków koreańskich (46 h-ATG i 53 r-ATG) stwierdzono podobny ORR oceniany po 6 miesiącach (odpowiednio 39,1% i 45,3%). Również prawdopodobieństwo 5-letniego OS było niemal identyczne (83,5% i 82,7%) [15].

W publikacji z Cleveland [16] porównano retrospektywnie 20 chorych leczonych r-ATG z 67 pacjentami, którzy otrzymali h-ATG. Odsetek odpowiedzi hematologicznych po 6 miesiącach (45% v. 58%) nie różnił się istotnie. W pracy tej nie oceniano OS w każdej z grup osobno, określając je na 76% dla obu grup łącznie po 2 latach [16].

W żadnej z dotychczasowych publikacji nie wykazano przewagi r-ATG nad h-ATG. Jedynie w dwóch badaniach, w których oceniano chorych prospektywnie (w tym jedno badanie randomizowane), wykazano większą skuteczność surowicy końskiej niż króliczej, co wskazuje, że leki te nie mogą być uznawane za równoważne.

Dawkowanie ATG zależy od rodzaju preparatu. Według producenta surowicę końską należy stosować w dawce 10–20 mg/kg mc./dobę przez 8–14 dni, a leczenie można przedłużyć do łącznej liczby 21 dawek podawanych co 2. dzień. Obecnie jednak, zgodnie z doświadczeniami Rosenfelda [17], zaleca się stosowanie leku w dawce 40 mg/kg/dobę przez 4 dni. Surowicę króliczą, zgodnie z charakterystyką, podaje się w dawce 2,5–3,5 mg/kg mc. przez 5 kolejnych dni. W opublikowanych doniesieniach stosowano lek w dawkach dochodzących nawet do 5 mg/kg mc./dobę. Jednak ze względu na znaczny odsetek powikłań infekcyjnych po leczeniu zaleca się raczej mniejsze dawki, tj. około 2,5 mg/kg mc./dobę [11]. W przypadku stosowania obu leków chorym należy dodatkowo podawać metylprednizolon w dawce 1–2 mg/kg mc. przez 5–10 dni, by zapobiec chorobie posurowiczej. Ważna jest także profilaktyka związanych z infuzją objawów niepożądanych za pomocą leków przeciwhistaminowych i przeciwgorączkowych. Należy pamiętać, że reakcja na leczenie immunosupresyjne i poprawa hematologiczna mogą być znacznie opóźnione.

Nie ma ściśle określonego czasu, po którym leczenie ATG należy uznać za nieskuteczne. U niektórych chorych odpowiedź obserwuje się nawet między 3. a 6. miesiącem od zastosowania surowicy [18]. Warto podkreślić, że w ciągu lat odnotowuje się poprawę wieloletniego przeżycia chorych poddanych leczeniu ATG. Prawdopodobieństwo 10-letniego OS chorych leczonych w latach 1997–1980 wynosiło 45%, natomiast u chorych leczonych między rokiem 1990 i 2000 wzrosło do 70% [19].

Cyklosporyna A

W badaniu randomizowanym, którego wyniki opublikowano w 1992 roku, Gluckman i wsp. [20] porównali skuteczność CsA w monoterapii z h-ATG stosowaną z prednizonem u chorych na SAA. Wyniki leczenia były gorsze od oczekiwanych i niemal identyczne w obu badanych grupach. Po 12 miesiącach ORR wyniósł 30% w odniesieniu do ATG i 31,6% w przypadku CsA, a OS, odpowiednio, 64% i 70% [20]. Znacznie lepsze efekty leczenia przedstawił w 1995 roku Bacigalupo [21] w pilotażowym badaniu grupy SAAWP. Wzięło w nim udział 40 chorych z rozpoznaniem SAA, u których zastosowano leczenie skojarzone h-ATG z CsA. W ocenie przeprowadzonej po 4 miesiącach u 82% pacjentów osiągnięto odpowiedź hematologiczną (ORR i niezależność od przetoczeń). Po 14 miesiącach prawdopodobieństwo OS wyniosło 92% [21]. Frickhofen i wsp. [22] potwierdzili większą skuteczność h-ATG w połączeniu z CsA niż samej

h-ATG na podstawie 11-letniej obserwacji chorych z niemieckiego badania randomizowanego. Całkowity odsetek odpowiedzi wśród chorych z rozpoznaniem SAA stwierdzono u 65% w grupie leczonej h-ATG z CSA oraz tylko u 31% w grupie leczonej h-ATG w monoterapii ($p = 0,011$) [22].

Jak wykazano w kolejnych publikacjach, długotrwałe przyjmowanie CsA po zastosowaniu ATG jest warunkiem powodzenia terapii. Zaleca się doustne podawanie leku w dawce 5 mg/kg mc./dobę w dwóch dawkach podzielonych. Należy monitorować podstawowe stężenie leku (*trough level*) i tak dostosowywać dawki, aby wynosiło 150–250 $\mu\text{g/l}$ we krwi pełnej. Okres terapii CsA nie powinien być krótszy niż 12 miesięcy. Dopiero po tym czasie, jeśli utrzymuje się stabilna odpowiedź na leczenie, dawki CsA można bardzo powoli zmniejszać. Takie postępowanie powoduje niższe ryzyko nawrotu choroby [23]. Tempo zmniejszania dawek nie powinno przekraczać 0,3–0,5 mg/kg/miesiąc. U 15–25% chorych można zaobserwować zależność utrzymywania się odpowiedzi hematologicznej od przewlekłego leczenia CsA [22, 24].

Cyklofosfamid

Cyklofosfamid (Cy) to lek alkilujący o bardzo silnych właściwościach immunosupresyjnych. Jest on wykorzystywany między innymi w kondycjonowaniu przed przeszczepieniem macierzystych komórek krwiotwórczych (HSCT, *hematopoietic stem cell transplantation*), ale także w niektórych chorobach z autoimmunizacji. Opisy przypadków sprzed lat wskazywały na możliwość uzyskania poprawy u chorych na SAA po zastosowaniu Cy w pośrednich dawkach, bez HSCT. W 1996 roku Brodsky i wsp. [25] przedstawili pierwszą, 10-osobową grupę chorych na SAA leczonych dużymi dawkami Cy (45 mg/kg przez kolejne 4 dni) oraz CsA. U 7 pacjentów osiągnięto CR [25]. Podobnie dobry efekt opisali oni w nieco większej, liczącej 19 chorych, grupie. Znacząca skuteczność takiego postępowania była podstawą przeprowadzenia badania randomizowanego, w którym porównywano ATG + CsA z Cy + CsA w leczeniu pierwszej linii. Niestety, w grupie leczonej Cy obserwowano nieakceptowalnie wysoką częstość powikłań w postaci zakażeń grzybiczych i zgonów. Z tego powodu badanie przerwano przed rekrutowaniem zaplanowanej liczby pacjentów [26]. Wyniki tego badania były przyczyną trwającego wiele lat odejścia od tej metody terapeutycznej.

W 2010 roku Brodsky i wsp. [27] przedstawili wyniki wieloletniej obserwacji 67 chorych leczonych Cy i CsA (w tym 44 chorych *de novo* i 23 z na-

wrotem lub opornych na wcześniejsze leczenie). Po 10 latach prawdopodobieństwo OS wyniosło 88%, a ORR 71% u pacjentów wcześniej nieleczonych. U pacjentów, u których Cy zastosowano z powodu nawrotu SAA lub oporności na wcześniejsze leczenie, OS wyniosło 62%, a ORR osiągnęło 48% chorych [27]. W długotrwałej obserwacji wyniki leczenia Cy są zatem identyczne jak po zastosowaniu h-ATG. W publikacji podkreślono jednak wysoką częstość inwazyjnej aspergilozy, wynoszącą 21% wśród chorych leczonych *de novo* i 43,5% u pacjentów niereagujących na uprzednio stosowaną terapię.

W najnowszym artykule Zhang i wsp. [28] opisali 121 chorych na SAA i vSAA. Siedemdziesięciu trzech chorych otrzymało r-ATG + CsA, a 48 — Cy + CsA w dawce nieco mniejszej niż w badaniu Brodsky'ego (30 mg/kg mc. Cy przez kolejne 4 dni). Po 12 miesiącach obserwacji ORR określono na 72,9% w grupie leczonej Cy i 78,1% w grupie leczonej r-ATG, a 5-letnie OS wyniosło odpowiednio 81,2% i 80,7%. Wyniki tej retrospektywnej analizy wskazują na taką samą skuteczność leczenia r-ATG jak Cy [28].

Alemtuzumab

W 2012 roku producent wycofał alemtuzumab z rynku farmaceutycznego i obecnie lek nie jest dostępny. Ze względu na mechanizm działania i silne właściwości immunosupresyjne przeciwciało anti-CD52 stanowiło interesującą opcję terapeutyczną w SAA. Dotychczas opublikowane doniesienia dotyczące zastosowania tego leku oparte są na niewielkich i zróżnicowanych grupach pacjentów. W 2012 roku Scheinberg i wsp. [29] przedstawili wyniki badania prowadzonego przez NIH w latach 2003–2010. Objęto nim 90 chorych na SAA w różnym wieku i z różnie zaawansowaną chorobą. Alemtuzumab podawano w dawce 10 mg/dobę przez 10 dni w monoterapii, natomiast r-ATG i h-ATG stosowano, odpowiednio, w dawkach 3,5 mg/kg mc./dobę oraz 40 mg/kg mc./dobę przez 5 dni w skojarzeniu z CsA. Odpowiedź na terapię oceniano po 6 miesiącach. W grupie 27 chorych opornych na wcześniejsze leczenie h-ATG porównano alemtuzumab z r-ATG. Odpowiedź hematologiczną osiągnięto, odpowiednio, u 37% i 33% chorych. W grupie chorych z nawrotową SAA alemtuzumab podawano 25 chorym, osiągając 56% ORR.

Porównywano trzy grupy pacjentów w zakresie pierwszej linii leczenia: leczoną alemtuzumabem, leczoną h-ATG i leczoną r-ATG. Po zastosowaniu alemtuzumabu u 16 chorych osiągnięto jedynie 19% odpowiedzi w postaci CR lub PR i ze względu na złe wyniki leczenia tę grupę badania zamknięto

wcześniej niż planowano [29]. Risitano i wsp. [30] opisali 19 chorych na SAA poddanych leczeniu alemtuzumabem w sumarycznej dawce 103 mg oraz CsA. U 6 chorych było to leczenie pierwszoliniowe, a u 13 — ratunkowe. W grupie tej ORR określono na 58% [30]. Gomez-Almaguer i wsp. [31] opisali kolejną, niewielką grupę 14 chorych z Meksyku (w tym 13 z rozpoznaniem SAA lub vSAA). Otrzymywali oni alemtuzumab podskórnie w łącznej dawce 50 mg wraz z CsA. W ocenie po 6 miesiącach ORR oszacowano na 57% (8 chorych) [31].

Glikokortykosteroidy

W publikacji z 1982 roku Gluckman i wsp. [32] opisali 170 chorych leczonych w latach 1974–1980. Pacjenci otrzymywali ATG, ATG z infuzją haploidentycznego szpiku od dawcy rodzinnego lub metylprednizolon w dużych dawkach. Nie stwierdzono różnic w zakresie ORR ani OS w poszczególnych grupach. Prawdopodobieństwo przeżycia było odwrotnie zależne od nasilenia cytopenii [32]. Późniejsze doniesienia wskazywały na znikomą skuteczność glikokortykosterydów w leczeniu SAA [33]. Obecnie metylprednizolon zaleca się wyłącznie jako profilaktykę choroby posurowiczej związanej ze stosowaniem ATG.

Allogeniczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych

Allogeniczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych to jedna z dwóch metod terapeutycznych, która może zapewnić trwałe wyliczenie chorych na AA. Wyniki allo-HSCT radykalnie się poprawiły w stosunku do okresu sprzed kilku czy kilkunastu lat, co sprawia, że opinie o roli allo-HSCT znacząco się zmieniają w ostatnim czasie. Dotyczy to zarówno wieku chorych, którzy powinni być poddani takiemu leczeniu, jak i możliwości wykorzystania komórek krwiotwórczych z innych źródeł niż tylko od rodzeństwa identycznego w zakresie ludzkich antygenów zgodności tkankowej (HLA, *human leukocyte antigen*).

Przeszczepienie komórek krwiotwórczych od rodzeństwa zgodnego w HLA

Tę metodę leczenia uznaje się za postępowanie z wyboru u młodszych chorych z rozpoznaniem SAA i vSAA. U każdego pacjenta posiadającego rodzeństwo natychmiast po zdiagnozowaniu choroby powinny być wykonane badania zgodności tkankowej. Wiek chorych, których należy traktować jako „młodszych”, nie jest precyzyjnie określony. Obecnie za takich uważa się zwykle pacjentów poniżej 50. roku życia [11]. Jednak nawet w przypadku

chorych starszych, ale w dobrym stanie ogólnym, allo-HSCT od rodzeństwa zgodnego w zakresie HLA bywa stosowanym leczeniem pierwszej linii. Dotyczy to w szczególności pacjentów z rozpoznaniem vSAA, u których prawdopodobieństwo powodzenia leczenia immunosupresyjnego jest mniejsze [34]. Jeśli chory nie był kwalifikowany do allo-HSCT w pierwszej linii leczenia, ale nie odpowiedział na immunosupresję i ma rodzeństwo zgodne w zakresie HLA, to powinien być poddany procedurze transplantacji w leczeniu drugiej linii.

W transplantacjach od rodzeństwa zgodnego pod względem HLA za kondycjonowanie z wyboru uznaje się skojarzenie Cy z ATG. W publikacji z 2001 roku Storb i wsp. [35] opisali grupę 94 chorych na SAA poddanych allo-HSCT w 4 ośrodkach. W kondycjonowaniu chorzy otrzymali Cy w łącznej dawce 200 mg/kg mc. oraz h-ATG w dawce 90 mg/kg mc. Mediana czasu obserwacji wynosiła 6 lat. Prawdopodobieństwo 6-letniego OS określono na 88%, u 4% chorych doszło do odrzucenia przeszczepu, a u 29% wystąpiła ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (aGvHD, *acute graft versus host disease*) w stopniu II–IV [35]. Identyczne wyniki przedstawili Konopacki i wsp. w 2012 roku dotyczące grupy 61 chorych, u których łącznie z Cy w tej samej dawce przez 5 kolejnych dni zastosowano 2,5 mg/kg mc r-ATG. W grupie tej prawdopodobieństwo 6-letniego OS określono na 87%, prawdopodobieństwo rozwoju aGvHD w stopniu II–IV wyniosło 23%, a u 97% pacjentów uzyskano trwale wszczepienie [36]. Wyniki te były znacząco lepsze niż we wcześniejszej publikacji opisującej zastosowanie w kondycjonowaniu wyłącznie Cy, w której prawdopodobieństwo OS było znacznie niższe, a brak wszczepienia sięgał 15% [37]. Należy jednak podkreślić, że opisani chorzy nie stanowili homogennej grupy pod względem nasilenia choroby, profilaktyki choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD, *graft versus host disease*) ani źródła przeszczepianych komórek.

W 2007 roku Champlin i wsp. [38] przedstawili dane jedyne, jak dotąd, badania randomizowanego, w którym porównywano wyniki allo-HSCT po kondycjonowaniu samym Cy (60 chorych) i Cy w skojarzeniu z h-ATG (70 chorych). Badana grupa składała się z pacjentów w wieku od 1 do 51 lat (mediana 25 lat), u których przeprowadzono transplantację szpiku od rodzeństwa zgodnego w zakresie HLA. W 6-letniej obserwacji nie stwierdzono istotnej różnicy pod względem prawdopodobieństwa OS. Wynosiło ono 74% w grupie leczonej Cy i 80% w grupie leczonej Cy + ATG [38].

W przeszczepieniach od rodzeństwa zgodnego w zakresie HLA preferowanym źródłem komórek krwiotwórczych jest BM. Bacigalupo i wsp. [39] dokonali analizy danych 1886 chorych z rejestru EBMT poddanych przeszczepieniu w latach 1999–2009. U 1163 chorych zastosowano BM, a u 723 komórki krwiotwórcze z krwi obwodowej (PBHSC, *peripheral blood hematopoietic stem cells*). We wszystkich grupach wiekowych stwierdzono istotnie dłuższe przeżycie pacjentów po przeszczepieniu BM w porównaniu z przeszczepieniem PBHSC, niezależnie od rodzaju kondycjonowania czy profilaktyki GvHD. Zwrócono uwagę na znacznie częstsze występowanie GvHD po przeszczepieniu PBHSC i negatywny wpływ tego powikłania na OS [39]. Do podobnych wniosków doszli we wcześniejszej publikacji Chu i wsp. [40], analizując grupę 759 chorych poddanych allo-HSCT od dawców rodzinnych. Istotnie dłuższe przeżycie stwierdzili oni u biorców BM niż u biorców PBHSC i biorców przeszczepów z obu źródeł [40]. Należy przy tym pamiętać o konieczności przeszczepienia dostatecznie dużej liczby komórek krwiotwórczych. W transplantacjach z zastosowaniem zbyt małej ich liczby zwiększa się ryzyko braku wszczepienia lub wtórnego odrzucenia przeszczepu. Wzrasta ono wyraźnie, jeśli przeszczepiany BM zawiera mniej niż 3×10^8 komórek jednojądrzastych/kg mc. biorcy [41]. W przypadku przeszczepu PBHSC za minimalną liczbę uważa się 2×10^6 komórek CD34+/kg mc. [42].

Leczenie immunosupresyjne w transplantacjach z powodu SAA odgrywa szczególną rolę. Z jednej strony stanowi profilaktykę GvHD, a z drugiej strony ma długotrwale hamować układ odpornościowy biorcy, zapobiegając późnemu odrzuceniu przeszczepu. Za standardową immunosupresję po przeszczepieniu uważa się CsA w skojarzeniu z dożylnym metotreksatem (Mtx, *methotrexate*) w dawce 15 mg/m² powierzchni ciała (pc.) w 1. dobie i 10 mg/m² pc. w dobach 3., 6. i 11. po przeszczepieniu. W prospektywnym randomizowanym badaniu Locatelli i wsp. [43] porównali skuteczność CsA w monoterapii oraz w skojarzeniu z Mtx u pacjentów poddanych allo-HSCT od rodzeństwa zgodnego pod względem HLA. Wykazali istotnie wyższe prawdopodobieństwo 5-letniego OS, wynoszące 94% u chorych otrzymujących profilaktykę dwulekową, niż u pacjentów przyjmujących tylko CsA (78%) [43]. Zaleca się długotrwale stosowanie CsA po transplantacji, przez co najmniej 9 miesięcy, i stopniowe odstawianie przez kolejne 3 miesiące. Dawkowanie CsA należy dostosowywać do podstawowego stężenia leku mierzonego we krwi pełnej, tak aby wynosiło ono 250–350 µg/l [23].

Ze względu na duże ryzyko późnego odrzucenia przeszczepu bardzo ważnym elementem opieki potransplantacyjnej jest regularne określanie chimerizmu hematopoetycznego. Najbardziej sprawdzona jest metoda reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*) wykorzystująca osobniczo zmienne oligonukleotydowe powtórzenia tandemowe (STR, *short tandem repeats*) w obrębie łańcucha DNA. Można nią wyróżnić tak zwany całkowity chimerizm hematopoetyczny dawcy (100% DNA dawcy), stabilny chimerizm mieszany ($\leq 10\%$ DNA biorcy) oraz narastający chimerizm mieszany ($> 10\%$ DNA biorcy lub wzrost $> 15\%$ w stosunku do pomiaru sprzed 3 miesięcy). Stwierdzenie tego ostatniego niesie duże ryzyko odrzucenia przeszczepu. Jak wykazano, narastający chimerizm mieszany biorcy, a zatem ryzyko odrzucenia, może wynikać z niedostatecznej immunosupresji po transplantacji [44]. Oznaczanie chimerizmu powinno być szczególnie skrupulatne w okresie redukcji immunosupresji, nawet jeśli wcześniej stwierdzano całkowity chimerizm dawcy. Pojawienie się w tym czasie DNA biorcy lub stwierdzenie narastania jego ilości jest przeciwwskazaniem do zmniejszania dawek leków immunosupresyjnych [45].

Odmienne podejście do immunosupresji w transplantacji (a więc *de facto* do kondycjonowania i leczenia po przeszczepieniu) zaprezentowali Marsh i wsp. [46]. Opisali oni doskonale efekty po zastosowaniu w kondycjonowaniu alemtuzumabu w skojarzeniu z Cy i fludarabiną oraz CsA w monoterapii po transplantacji. Prawdopodobieństwo 2-letniego OS u chorych po transplantacjach od dawców rodzinnych wyniosło 95%. Obserwowano przy tym niewielki odsetek aGvHD i przewlekłej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (cGvHD, *chronic graft versus host disease*) — odpowiednio 13,5% i 4%. Brak wszczepienia lub odrzucenie przeszczepu stwierdzono u 9,5% chorych. Interesujące informacje uzyskano, analizując chimerizm hematopoetyczny. U części chorych w niefrakcjonowanych leukocytach z krwi obwodowej stwierdzano całkowity chimerizm dawcy (metodą STR, granica czułości 5%). Jednak we frakcji limfocytów CD3+ takiego wyniku nie uzyskano w żadnym z oznaczeń u żadnego pacjenta. Mediana wartości chimerizmu dawcy w limfocytach CD3 wynosiła 45%. Tłumaczy to niski odsetek cGvHD, potwierdzając, że stabilny chimerizm mieszany zapewnia dostatecznie sprawne krwiotworzenie u chorych poddanych przeszczepieniu z powodu SAA [46].

Przeszczepienie komórek krwiotwórczych od dawców niespokrewnionych

Wyniki allo-HSCT od dawców niespokrewnionych w ostatnich latach bardzo się poprawiły. Skuteczność przeszczepienia zależy od stopnia zgodności HLA między dawcą i biorcą. Do końca lat 90. ubiegłego wieku można było oczekiwać 5-letniego OS u około 40% chorych, jeśli HSCT dokonywano od dawcy w pełni zgodnego [47]. Najnowsze wyniki HSCT od zgodnych dawców niespokrewnionych u dzieci wskazują na prawdopodobieństwo 5-letniego OS nawet na poziomie 80% [48]. Opracowane przez polskich badaczy wyniki HSCT w tej grupie chorych nie są aż tak dobre i według nich prawdopodobieństwo 5-letniego OS wynosi 64% [49]. Podobnie jak w HSCT od rodzeństwa lepsze wyniki są uzyskiwane u młodszych pacjentów. Jednym z istotnych zagrożeń po transplantacjach od dawców niespokrewnionych pozostaje brak wszczepienia stwierdzany nawet u kilkunastu procent chorych. Ryzyko wzrasta szczególnie w HSCT od dawców nie w pełni zgodnych w zakresie HLA. Wydaje się, że intensyfikacja kondycjonowania może umożliwić rozwiązanie tego problemu.

Najczęściej stosowanym schematem przygotowawczym przed HSCT od dawców niespokrewnionych jest skojarzenie fludarabiny (30 mg/m² p.c. przez 4 dni), Cy (30 mg/kg mc. przez 4 dni) oraz ATG (r-ATG 2,5–3,75 mg/kg mc. przez 4 dni). Jak wykazali Bacigalupo i wsp. [50], dołączenie napromieniania całego ciała (TBI, *total body irradiation*) dawką 200 cGy do takiego protokołu kondycjonowania poprawia wyniki leczenia. Przewidywane 5-letnie OS wyniosło 79% u chorych napromienianych w porównaniu z 73% u chorych bez TBI. Co więcej, autorzy stwierdzili, że TBI niweluje niekorzystny wpływ wieku na przeżycie po transplantacji. Jednak, mimo intensyfikacji stosowanego kondycjonowania, aż u 17% chorych obserwowano brak wszczepienia lub późne odrzucenie przeszczepu [50].

Lee i wsp. [51] opisali grupę 50 dorosłych chorych (mediana wieku 28 lat), u których zastosowano w kondycjonowaniu TBI w dawce 800 cGy w połączeniu ze 120 mg/kg mc. Cy. Siedemnastu chorych poddano HSCT od dawców z niezgodnością w zakresie HLA. U wszystkich pacjentów uzyskano trwałe wszczepienie, a prognozowane 5-letnie przeżycie wyniosło 88%. Wzmocnienie kondycjonowania za pomocą TBI wydaje się szczególnie korzystne u chorych zimmunizowanych przez

wielokrotne przetoczenia preparatów krwiopochodnych, chociaż tak duże dawki promieniowania wiążą się z wysokim ryzykiem aGvHD i cGvHD. Odsetek tych powikłań w opisywanej grupie wyniósł odpowiednio 46% i 50% [51].

W zaktualizowanej ocenie retrospektywnej Marsh i wsp. [52] opisali 60 chorych, u których zastosowano alemtuzumab lub ATG przed HSCT od dawców niespokrewnionych, zgodnych w zakresie HLA. Wykorzystanie alemtuzumabu pozwoliło na osiągnięcie 5-letniego OS u 88% chorych w porównaniu z 57% po ATG. Istotnie niższy był też odsetek chorych z objawami cGvHD (odpowiednio 11% i 26%) [52].

Wszystkie badania, w których analizowano ten aspekt procedury, wskazują, że lepszym źródłem komórek do HSCT od dawców niespokrewnionych jest BM. Przeszczepianie PBHSC wiąże się ze zwiększonym ryzykiem GvHD i mniejszym prawdopodobieństwem przeżycia. Eapen i wsp. [53] udowodnili to, porównując 225 biorców BM i 71 biorców PBHSC poddanych transplantacjom w różnych ośrodkach. Stwierdzili prawdopodobieństwo 3-letniego OS wynoszące odpowiednio 76% i 61% oraz skumulowane ryzyko aGvHD wynoszące odpowiednio 31% i 48% [53]. Jednak w ostatnich latach przeszczepienie PBHSC od dawców niespokrewnionych stanowią już około 40% (w odniesieniu do transplantacji rodzinnych wskaźnik ten jest niższy i stanowi obecnie ok. 35%) i jest to trend rosnący [54]. Znajduje to wytłumaczenie w łatwiejszym pozyskiwaniu PBHSC i preferencji dawców do tego sposobu donacji nad oddawaniem BM w znieczuleniu ogólnym.

Leczenie immunosupresyjne po HSCT od dawców niespokrewnionych nie odbiega od stosowanego po przeszczepieniach rodzinnych. Jeśli porównuje się dane z publikacji opisujących chorych poddawanych HSCT od rodzeństwa i zgodnych dawców niespokrewnionych, to wyniki tych drugich są wyraźnie gorsze. Należy jednak mieć na uwadze, że u ogromnej większości chorych procedurę HSCT od dawcy niespokrewnionego wykonuje się, gdy chory nie odpowie na wcześniejsze leczenie immunosupresyjne z zastosowaniem ATG, natomiast opisywane HSCT od dawców rodzinnych stanowią głównie leczenie pierwszej linii.

Przeszczepienie komórek krwiotwórczych od rodzeństwa genoidentycznego

Dotychczas ukazały się zaledwie trzy publikacje obejmujące większe grupy chorych poddanych przeszczepieniu od bliźniąt jednojajowych. W najnowszej z nich Gerull i wsp. [55] opisali 88 chorych

z bazy danych EBMT poddanych łącznie 113 HSCT. W całej grupie 10-letnie OS wyniosło 93%. Brak wszczepienia lub odrzucenie przeszczepu stwierdzono w 32% transplantacji — przede wszystkim tych, w których nie stosowano kondycjonowania. Powtórzenie procedury z kondycjonowaniem pozwalało uzyskać wszczepienie u niemal wszystkich chorych. W analizie wielowariantowej wykazano, że skuteczność HSCT jest statystycznie zależna od zastosowania kondycjonowania, które w większości przypadków było oparte na Cy w dużych dawkach. Nie stwierdzono jednoznacznie, by istotnie korzystną rolę odgrywało podanie ATG. Na poprawę wyników leczenia wpływały wykorzystanie krwi obwodowej jako źródła komórek oraz późniejsze leczenie immunosupresyjne. Ze względu na rodzaj transplantacji nie można było udowodnić, że to komórki dawców odpowiadają za hematopoezę po HSCT. Jednak właśnie to sugeruje czas do wszczepienia wynoszący 14 dni, nawet jeśli obserwowany efekt był czasowy przed hipotetycznym odtworzeniem własnej hematopoezy biorców [55].

Przeszczepienie krwi pępowinowej

Dane dotyczące zastosowania krwi pępowinowej (CB, *cord blood*) w HSCT z powodu SAA nie są zbyt liczne i dotyczą niewielkich grup chorych. Dotychczas nie ustalono optymalnego sposobu kondycjonowania i prowadzenia leczenia immunosupresyjnego. Z pewnością, podobnie jak w przeszczepieniach CB z innych wskazań, w profilaktyce GvHD nie należy stosować Mtx. Zasadniczym problemem w procedurach z wykorzystaniem CB pozostaje brak wszczepienia oraz wyraźnie gorsze OS w porównaniu z innymi rodzajami HSCT.

Peffault de Latour i wsp. [56] przedstawili wyniki przeszczepień CB u 71 chorych przeprowadzonych w latach 1996–2009 w 32 ośrodkach. Mediana wieku chorych wynosiła 13 lat. U 57 pacjentów przeszczepiono 1 jednostkę, a u 14 — 2 jednostki CB. W większości HSCT kondycjonowanie było niemieloablacyjne z zastosowaniem fludarabiny, a leczenie immunosupresyjne prowadzono za pomocą CsA w monoterapii. Wszczepienie (do 60. doby) stwierdzono u 51%, a regenerację płytkotworzenia (do 180. doby) u 37% chorych. Prawdopodobieństwo 3-letniego OS określono na 38%. Wszczepienie oraz 3-letnie OS było istotnie lepsze u pacjentów, którzy otrzymali ponad $3,9 \times 10^7$ komórek jądrzastych/kg mc. Potwierdza to znaczenie liczby przeszczepianych komórek dla powodzenia transplantacji CB w tym wskazaniu [56].

We wcześniejszym doniesieniu Chan i wsp. [57] ocenili wyniki transplantacji u 9 dzieci. U wszyst-

kich po zastosowaniu Cy w dawce 120 mg/kg mc. lub większej uzyskano wszczepienie. Po 34 miesiącach 7 chorych pozostawało wolnych od przetoczeń. Istotnymi powikłaniami były reaktywacja wirusa Epstein-Barr (5 chorych) oraz potransplantacyjna choroba limfoproliferacyjna (3 chorych) [57].

Autorzy japońscy opisali grupę 12 dorosłych w wieku 20–70 lat poddanych bardziej intensywnemu kondycjonowaniu przed przeszczepieniem CB. Zastosowano fludarabinę (125 mg/m²), melfalan (80 mg/m²) oraz TBI (400 cGy). U większości późniejsze leczenie immunosupresyjne prowadzono za pomocą takrolimusu z mykofenolanem mofetilu (MMF, *mycophenolate mofetil*). Mediana liczby przeszczepionych komórek wynosiła $2,5 \times 10^7$ /kg mc. Wszczepienie uzyskano u 11 chorych. Dwa chorych zmarło, a u pozostałych w momencie publikacji mediana OS wyniosła 36 miesięcy [58]. Zwraca się uwagę, że w przypadku transplantacji CB z niezgodnością w zakresie HLA konieczne jest oznaczenie swoistych dla dawcy przeciwciał anti-HLA u biorcy przeszczepu. Ich obecność wyraźnie niekorzystnie wpływa na wszczepienie i przeżycie chorych [59].

Przeszczepienie haploidentyczne

W ostatnich latach zwiększa się zainteresowanie przeszczepieniem haploidentycznym w chorobach nowotworowych. Powodzenie transplantacji haploidentycznych zależy od podania chorym dostatecznie dużej liczby komórek krwiotwórczych oraz zubożenia przeszczepu w limfocyty T. Stosuje się dwa sposoby deplecji limfocytów T — *in vitro* za pomocą przeciwciał monoklonalnych i pozytywnej lub negatywnej selekcji komórek oraz *in vivo* dzięki podaniu dużych dawek Cy po HSCT.

Doświadczenia z przeszczepieniami haploidentycznymi w leczeniu SAA są niewielkie. Większość opisów dotyczy małych grup chorych oraz pojedynczych pacjentów, u których stosowano intensywne kondycjonowanie i deplecję limfocytów T *in vitro*. Im i wsp. [60] opisali w tym roku grupę 12 dzieci, u których przeprowadzono taką procedurę. Stosowano kondycjonowanie złożone z fludarabiny, Cy i ATG, a u części chorych także TBI w małej dawce. Chorzy otrzymali przeszczepy pobrane z krwi obwodowej od członków rodziny, po usunięciu limfocytów T za pomocą przeciwciał monoklonalnych. Jako immunosupresję stosowano inhibitor kalcyneuryny z MMF. U 3 chorych stwierdzono niewydolność przeszczepu i z tego powodu poddano ich kolejnemu przeszczepieniu od tego samego dawcy. Okres obserwacji wynosił od 4 do 41 miesięcy i przy medianie 14 miesięcy prawdopodobieństwo OS wyniosło 100%; wszyscy

chorzy pozostawali wolni od konieczności przetoczeń preparatów krwiopochodnych [60].

Xu i wsp. [61] opisali 19 chorych poddanych transplantacjom od dawców rodzinnych z niezgodnością w zakresie HLA w 2 lub 3 *loci*. U pacjentów zastosowano kondycjonowanie za pomocą busulfanu, Cy i ATG. U chorych przeprowadzono przeszczepienie z krwi obwodowej bez specyficznej deplecji limfocytów T. Immunosupresja składała się z CsA, MMF oraz Mtx. Przy medianie czasu obserwacji wynoszącej 764 dni OS określono na 64%. U nieco ponad połowy chorych wystąpiły objawy aGvHD i cGvHD [61].

Leczenie chorych w starszym wieku i pacjentów z rozpoznaniem nSAA

Postępowanie z chorymi w starszym wieku jest problematyczne. Decyzje terapeutyczne są w dużym stopniu zindywidualizowane i zależą od nasilenia choroby, wieku pacjenta, chorób współistniejących, ryzyka zakażeń i konieczności uzupełniania składników krwi. Chorych w wieku powyżej 60 lat nie kwalifikuje do allo-HSCT w pierwszej linii leczenia, nawet jeśli mają zgodnego dawcę rodzinnego.

Dotychczas brakuje doniesień dotyczących allo-HSCT koncentrujących się na takiej populacji pacjentów. Gupta i wsp. [62] przeprowadzili analizę 1307 HSCT od zgodnych dawców rodzinnych wykonanych w latach 1996–2004. Stwierdzili, że ryzyko zgonu wzrasta istotnie z wiekiem i u chorych starszych niż 40 lat można oczekiwać 5-letniego OS wynoszącego 53% [62]. Dane te nie odpowiadają wprawdzie aktualnym wynikom allo-HSCT, ale jednoznacznie wskazują na mniejsze prawdopodobieństwo powodzenia transplantacji u pacjentów starszych.

Zastosowanie IST z użyciem ATG i CsA powinno być rozważane przede wszystkim u chorych z agranulocytozą. Wynika to z obserwacji, że główną przyczyną zgonów chorych w tej populacji są zakażenia [63]. Trzeba mieć jednak na uwadze, że leczenie takie u starszych chorych jest również obciążone wyższym ryzykiem powikłań, mniejszym prawdopodobieństwem odpowiedzi i krótszym przeżyciem niż u pacjentów młodszych [64]. Aby obniżyć ryzyko niepowodzenia, konieczna jest niezwykle dokładna i wszechstronna ocena kliniczna chorych.

U pacjentów niekwalifikujących się do leczenia za pomocą ATG można zastosować CsA w monoterapii. Takie leczenie jest również proponowane u chorych na SAA, u których dominującymi objawami choroby są niedokrwistość i małopłytkowość, bez współistniejącej agranulocytozy oraz

u pacjentów z rozpoznaniem nSAA. Odpowiedź na terapię uzyskuje się jednak u mniejszego odsetka chorych i w późniejszym czasie niż po zastosowaniu leczenia skojarzonego z ATG [65]. Leczenie starszych osób CsA wymaga ścisłego nadzoru ze względu na częste powikłania, przede wszystkim w postaci upośledzenia funkcji nerek i nadciśnienia tętniczego.

Poprawę hematologiczną u części chorych można uzyskać po zastosowaniu pochodnych testosteronu. Najczęściej stosowanym lekiem jest danazol. W grupie 37 chorych opisanych przez Jaime-Pereza i wsp. [66] ORR po leczeniu danazolem wyniósł 46%. Skuteczność leczenia nie wiązała się z wyjściowym nasileniem choroby. Lek stosowano w średniej dawce 400 mg/dobę. Mediana czasu od rozpoczęcia leczenia do uzyskania odpowiedzi wynosiła 3 miesiące. Przeżycie chorych leczonych danazolem porównano z przeżyciem pacjentów poddanych allo-HSCT. Po 5-letniej obserwacji prawdopodobieństwo OS u chorych leczonych danazolem określono na 41%, a u chorych poddanych allo-HSCT — na 92% [66].

Leczenie wspomagające

Uzupełnianie składników krwi

Z reguły chorzy, u których rozpoznano SAA, wymagają regularnego przetaczania koncentratów krwinek czerwonych (kkc) i płytkowych (kpk). Jak wykazano przed wielu laty, liczne przetoczenia przed allo-HSCT wpływają negatywnie na rezultaty transplantacji [67]. Wynika to przede wszystkim z możliwości alloimmunizacji antygenami HLA oraz wtórnej hemochromatozy. Zaleca się restrykcyjne postępowanie dotyczące przetoczeń, szczególnie u kandydatów do allo-HSCT. Konieczność transfuzji należy określać, kierując się stanem klinicznym chorego, a nie tylko stężeniem hemoglobiny (Hb) czy liczbą PLT.

U pacjentów, u których planuje się allo-HSCT, bezwzględnie wskazaniami do suplementacji składników krwi są nasilona skaza krwotoczna lub krwawienie oraz objawy hipoksji [68]. Przetoczenie kkc należy jednak planować zawsze, gdy stwierdza się stężenie Hb poniżej 6 g/dl. Profilaktyczne transfuzje kpk powinien otrzymywać każdy chory, u którego liczba PLT zmniejsza się poniżej 10 G/l. W przypadku współistniejących powikłań, takich jak gorączka czy krwawienie, należy utrzymywać większą liczbę PLT w celu obniżenia ryzyka zagrażających życiu krwotoków [69].

Preparaty krwiopochodne powinny być pozbawione leukocytów. Wykazano, że leukodeplecja zmniejsza prawdopodobieństwo alloimmunizacji,

która może powodować oporność na przetoczenia kkp, reakcje poprzetoczeniowe i negatywnie wpływać na wyniki allo-HSCT [70]. Celem pozbawienia składników krwi leukocytów jest również zapobieżenie zakażeniu wirusem cytomegalii (CMV, *Cytomegalovirus*). Postępowanie to uważa się za równorzędnie skuteczne ze stosowaniem preparatów krwiopochodnych pobranych od dawców CMV-ujemnych [71].

U chorych poddawanych IST lub allo-HSCT istnieje ryzyko rozwoju potransfuzyjnej GvHD po przetoczeniu komórkowych składników krwi. Z tego względu należy ściśle unikać przetoczeń preparatów krwiopochodnych od krewnych, a wszystkie preparaty trzeba poddawać napromienieniu dawką 25–30 Gy [72].

Profilaktyka i leczenie zakażeń

Zwiększone ryzyko zakażeń dotyczy chorych z agranulocytozą. Postępowanie profilaktyczne u tych pacjentów powinno obejmować zarówno odpowiednie warunki hospitalizacji, ścisłe stosowanie zasad aseptyki oraz dietę ubogobakteryjną, jak i zapobiegawcze podawanie leków przeciwwzrostowych. Brakuje randomizowanych badań u chorych na SAA, w których oceniono by skuteczność takiej profilaktyki. Powszechnie stosuje się jednak uznane zasady postępowania w innych sytuacjach przebiegających z agranulocytozą, w odniesieniu do których takie wyniki badań opublikowano (intensywna chemioterapia, HSCT).

Profilaktyka farmakologiczna polega zazwyczaj na stosowaniu leków przeciwwzrostowych, fluorochinolonów lub antybiotyków niewchłaniających się z przewodu pokarmowego, acyklowiru oraz trimetoprimu z sulfametoksazolem [73, 74]. Z powodu długotrwałej agranulocytozy chorzy stanowią grupę ryzyka rozwoju inwazyjnej grzybicy, spowodowanej przede wszystkim grzybami pleśniowymi [75]. W przypadku stwierdzenia gorączki u chorego na SAA konieczne są natychmiastowa hospitalizacja oraz intensywna diagnostyka i leczenie w warunkach szpitalnych. U pacjentów nieodpowiadających na właściwe leczenie przeciwwzrostowe mogą istnieć wskazania do zastosowania koncentratów granulocytarnych, choć dotychczas nie stwierdzono jednoznacznych korzyści z ich stosowania [76].

Krwiotwórcze czynniki wzrostu

Stosowanie czynników wzrostu poszczególnych linii komórkowych jako leczenia wspomagającego immunosupresję u chorych na SAA ma dość długą historię. Najwięcej badań, w tym kilka randomizowanych, służyło ocenie stosowania czyn-

nika stymulującego wzrost kolonii granulocytów (G-CSF, *granulocyte-colony stimulating factor*). W większości z nich nie stwierdzono, by terapia G-CSF wpływała istotnie na częstość uzyskiwanych odpowiedzi na leczenie immunosupresyjne, ich jakość, czas trwania oraz przeżycie chorych [77]. Tylko w jednym randomizowanym badaniu Tera-mura i wsp. [78] wykazali, że dołączenie G-CSF do leczenia immunosupresyjnego zwiększa ORR w ocenie po 6 miesiącach (77% v. 57%) oraz obniża ryzyko nawrotu, nie wpływając jednak na OS. Wyników tych nie potwierdzono w randomizowanym badaniu EBMT. Tichelli i wsp. [64] stwierdzili natomiast, że u chorych z rozpoznaniem vSAA G-SCF może mieć korzystny wpływ, zmniejszając częstość powikłań infekcyjnych oraz skracając czas hospitalizacji.

Doniesienia dotyczące zastosowania rekombinowanej erytropoetyny (EPO, *erythropoietin*) lub białek stymulujących erytropoezę u chorych na AA są bardzo nieliczne. W publikacji Bessho i wsp. [79], opisującej chorych na AA o różnym nasileniu, korzystny efekt EPO ograniczał się do osób z rozpoznaniem nSAA i był bardziej widoczny u pacjentów z mniejszym wyjściowym upośledzeniem erytropoezy. Zheng i wsp. [80] opisali 142 chorych z rozpoznaniem SAA, u których prospektywnie porównywano cztery schematy leczenia, w tym dwa z zastosowaniem EPO. Nie stwierdzili oni wpływu stosowania EPO na poprawę wyników terapii [80].

Stosowanie czynników stymulujących trom-bopoezę w leczeniu AA dotychczas opisywano w przypadkach pojedynczych chorych. Dopiero w 2012 roku Olnes i wsp. [81] przedstawili wyniki monoterapii eltrombopagiem u 25 pacjentów opernych na wcześniejsze IST, po co najmniej 1 cyklu leczenia ATG. Chorzy nie otrzymywali równoległe immunosupresji ani innych czynników wzrostu. Lek stosowano w dawce wyjściowej 50 mg, którą stopniowo zwiększano do 150 mg/dobę. Leczenie nie było powikłane istotnymi działaniami niepożądanymi. Po 12 tygodniach terapii poprawę hematologiczną uzyskało 11 (44%) chorych, a u 9 z nich obserwowano uniezależnienie się od przetoczeń kkp [81].

Leczenie wtórnej hemochromatozy

Wtórna hemochromatoza jest powszechnym problemem u chorych na SAA wynikającym z licznych przetoczeń kkc. Przeladowanie żelazem jest istotną przyczyną zwiększonej chorobowości i śmiertelności w tej grupie chorych [82]. Dotyczy to zarówno chorych leczonych immunosupresyjnie, jak i poddawanych allo-HSCT [83]. Przetoczenie 1 jednostki kkc dostarcza około 150-200 mg żela-

za, podczas gdy fizjologiczna dobową utrata to około 1 mg. Objawy hemochromatozy mogą wystąpić już po przetoczeniu 10–20 jednostek kkc. Przeladowanie żelazem ocenia się na podstawie stężenia ferrytyny w surowicy, obrazu serca i wątroby w rezonansie magnetycznym (MRI, *magnetic resonance imaging*) oraz badania histopatologicznego biopsji wątroby. To ostatnie badanie nie jest jednak uznawane za miarodajne ze względu na niehomogenny rozkład złogów żelaza w wątrobie.

Wskazaniem do leczenia chelatującego jest stężenie ferrytyny przekraczające 1000 ng/ml [23]. Do uszkodzeń narządowych może jednak dochodzić znacznie wcześniej. Badanie MRI wątroby i serca należy zatem wykonywać regularnie w okresie długotrwałego leczenia substytucyjnego kkc, niezależnie od aktualnego stężenia ferrytyny [84]. W celu zmniejszenia przeladowania żelazem od trzech dziesięcioleci stosowana jest deferoksamina. Optymalną skuteczność leczenia uzyskuje się przewlekłą terapią w postaci długotrwałych wlewno-drożynych (8–10 godzin), w dawce 40 mg/kg mc. przez 5 dni w tygodniu. Podobny efekt można osiągnąć podając lek podskórnie, co jednak u chorych na SAA nie jest zwykle możliwe z powodu współistniejącej małopłytkowości [85]. Lekiem chelatującym do stosowania doustnego jest zarejestrowany w Europie w 2006 roku deferazyroks. W celu zmniejszenia przeladowania żelazem stosuje się go przewlekle w dawce 30 mg/kg mc./dobę, a zapobiegawczo 20 mg/kg mc/dobę.

Opublikowane wyniki badań wskazują, że nadmiar żelaza wpływa toksycznie na erytropoezę. Lee i wsp. [86] opisali grupę 24 chorych na nSAA ze stwierdzoną hemochromatozą, u których deferazyroks stosowano bez leczenia immunosupresyjnego. U 11 (46%) pacjentów uzyskano odpowiedź na leczenie w postaci uniezależnienia od przetoczeń kkc [86]. W przypadku chorych na AA, którzy uzyskali odpowiedź na leczenie immunosupresyjne lub allo-HSCT, a nadal mają cechy hemochromatozy, dobrym postępowaniem jest flebotomia. Uważa się ją za metodę z wyboru u wszystkich pacjentów, u których pozwala na to stężenie Hb [87]. Nie ma jednolitego schematu wykonywania krwiopustów. Praktyczny sposób postępowania przedstawili Angelucci i wsp., wykonując je w objętości 6 ml/kg mc. co 14 dni, aż do obniżenia stężenia ferrytyny poniżej 500 µg/l [88].

Podsumowanie

Rozpoznanie AA wymaga od lekarza podjęcia właściwych decyzji terapeutycznych, które stworzą największą szansę na wyleczenie. Z powodu

rzadkiego występowania AA nawet do specjalistycznych ośrodków trafia nie więcej niż kilku chorych w ciągu roku. Według zaleceń EBMT-SAAWP u chorych na SAA w wieku poniżej 50 lat z dostępnym zgodnym dawcą rodzinnym w leczeniu pierwszej linii powinno się przeprowadzić allo-HSCT. W przypadku braku takiego dawcy, wieku chorego powyżej 50 lat lub w przypadku nSAA wymagającej przetoczeń preparatów krwiopochodnych leczeniem pierwszej linii powinna być immunoablacja z zastosowaniem h-ATG w skojarzeniu z CsA. Przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych od dawcy alternatywnego należy rozważać jako leczenie drugiej linii w przypadku braku odpowiedzi na IST u chorych poniżej 65. roku życia. Jednak jeśli nie jest dostępna h-ATG i do dyspozycji pozostaje jedynie r-ATG lub u chorego występuje wysokie ryzyko powikłań infekcyjnych po immunoablacji, to HSCT od dawcy alternatywnego można rozpatrywać jako leczenie pierwszej linii [11].

Optymalne leczenie chorych w starszym wieku i pacjentów z rozpoznaniem nSAA nie jest jednoznacznie ustalone. Proponuje się różne sposoby postępowania, zależnie od stanu ogólnego chorego i nasilenia objawów AA. Terapia może polegać na zastosowaniu immunosupresji o różnym stopniu intensywności lub ograniczać się wyłącznie do leczenia objawowego.

Ponadto wszyscy chorzy z rozpoznaniem AA wymagają odpowiedniego leczenia wspomagającego, dostosowanego do aktualnej sytuacji klinicznej.

Piśmiennictwo

1. Montané E., Ibañez L., Vidal X. i wsp. Epidemiology of aplastic anemia: a prospective multicenter study. *Haematologica* 2008; 93: 518–523.
2. Issaragrisil S., Kaufman D.W., Anderson T. i wsp. The epidemiology of aplastic anemia in Thailand. *Blood* 2006; 107: 1299–1307.
3. Camitta B.M., Rapoport J.M., Parkman R., Nathan D.G. Selection of patients for bone marrow transplantation in severe aplastic anemia. *Blood* 1975; 45: 355–363.
4. Bacigalupo A., Hows J., Gluckman E. i wsp. Bone marrow transplantation (BMT) versus immunosuppression for the treatment of severe aplastic anemia (SAA): a report of the EBMT SAA working party. *Br. J. Haematol.* 2009; 70: 177–182.
5. Weizierl E.P., Arber D.A. The differential diagnosis and bone marrow evaluation of new-onset pancytopenia. *Am. J. Clin. Pathol.* 2013; 139: 9–29.
6. Borovitz M.J., Craig F.E., Diguseppe J.A. i wsp. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin. Cytom.* 2010; 78: 211–230.
7. Scheinberg P., Marte M., Nunez O., Young N.S. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in severe aplastic anemia patients treated with horse anti-thymocyte globulin plus cyclosporine. *Haematologica* 2010; 95: 1075–1080.
8. Gupta V., Brooker C., Tooze J.A. Clinical relevance of cytogenetic abnormalities at diagnosis of acquired aplastic anemia in adults. *Br. J. Haematol.* 2006; 134: 95–99.
9. Sandes A.F., Kerbauy D.B.M., Matarraz S. i wsp. Combined flow cytometric assessment of CD45, HLA-DR, CD34 and CD117 expression is a useful approach for reliable quantification of blast cells in myelodysplastic syndromes. *Cytometry B Clin. Cytom.* 2013; 84: 157–166.
10. Locasciulli A., Bacigalupo A., Bruno B. i wsp. Hepatitis-associated aplastic anemia: epidemiology and treatment results obtained in Europe. A report of the EBMT aplastic anemia working party. *Br. J. Haematol.* 2010; 149: 890–895.
11. Marsh J., Dufour C. Indications for HSCT in adults. Aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. W: Apperley J., Carreras E., Gluckman E., Masszi T. (red.) *The EBMT Handbook* 2012. Forum service editore, Genova 2012: 470–489.
12. Scheinberg P., Nunez O., Weinstein B. i wsp. Horse versus rabbit antithymocyte globulin in acquired aplastic anemia. *N. Eng. J. Med.* 2011; 365: 430–438.
13. Marsh J.C., Bacigalupo A., Schrezenmeier H. i wsp. Prospective study of rabbit antithymocyte globulin and cyclosporin for aplastic anemia from the EBMT Severe Aplastic Anemia Working Party. *Blood* 2012; 119: 5391–5396.
14. Atta E.H., Dias D.S., Marra V.L., de Azevedo A.M. Comparison between horse and rabbit antithymocyte globulin as first-line treatment for patients with severe aplastic anemia: a single-center retrospective study. *Ann. Hematol.* 2010; 89: 851–859.
15. Shin S.H., Yoon J.H., Yang S.A. i wsp. The Efficacy of rabbit antithymocyte globulin with cyclosporine in comparison to horse antithymocyte globulin as a first-line treatment in adult patients with severe aplastic anemia: a single-center retrospective study. *Ann. Hematol.* 2013; 92: 817–824.
16. Afable M.G., Shaik M., Sugimoto Y. i wsp. Efficacy of rabbit anti-thymocyte globulin in severe aplastic anemia. *Haematologica* 2011; 96: 1296–1275.
17. Rosenfeld S., Follmann D., Nunez O., Young N.S. Antithymocyte globulin and cyclosporine for severe aplastic anemia: association between hematologic response and long-term outcome. *JAMA* 2003; 289: 1130–1135.
18. Scheinberg P. Aplastic anemia: therapeutic updates in immunosuppression and transplantation. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2012: 292–300.
19. Passweg J.R., Tichelli A. Immunosuppressive treatment for aplastic anemia: are we hitting the ceiling? *Haematologica* 2009; 94: 310–312.
20. Gluckman E., Esperou-Bourdeau H., Baruchel A. i wsp. Multi-center randomized study comparing cyclosporine-A alone and antithymocyte globulin with prednisone for treatment of severe aplastic anemia. *Blood* 1992; 79: 2540–2546.
21. Bacigalupo A., Broccia G., Corda G. i wsp. Antilymphocyte globulin, cyclosporin and granulocyte colony-stimulating factor in patients with acquired severe aplastic anemia (SAA): a pilot study of the EBMT SAA working party. *Blood* 1995; 85: 1348–1353.
22. Frickhofen N., Heimpel H., Kaltwasser J.P., Schrenzenmeier H. Antithymocyte globulin with or without cyclosporin A: 11-year follow-up of a randomized trial comparing treatments of aplastic anemia. *Blood* 2003; 101: 1236–1342.
23. Marsh J.C., Ball S.E., Cavenagh J. i wsp. Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anemia. *Br. J. Haematol.* 2009; 147: 43–70.
24. Saracco P., Quarello P., Iori A.P. i wsp. Cyclosporin A response and dependence in children with acquired aplastic anemia: a multicen-

- tre retrospective study with long-term follow-up. *Br. J. Haematol.* 2008; 140: 197–205.
25. Brodsky A.R., Sensenbrenner L.L., Jones R.J. Complete remission in severe aplastic anemia after high-dose cyclophosphamide without bone marrow transplantation. *Blood* 1996; 87: 491–494.
 26. Tisdale J.F., Dunn D.E., Geller N. i wsp. High-dose cyclophosphamide in severe aplastic anaemia: a randomised trial. *Lancet* 2000; 356: 1554–1559.
 27. Brodsky R.A., Chen A.R., Dorr D. i wsp. High-dose cyclophosphamide for severe aplastic anemia: long term follow-up. *Blood* 2010; 115: 2146–2141.
 28. Zhang F., Zhang L., Jing L. i wsp. High-dose cyclophosphamide compared with antithymocyte globulin for treatment of acquired severe aplastic anemia. *Exp. Hematol.* 2013; 41: 328–334.
 29. Scheinberg P., Nunez O., Weinstein B. i wsp. Activity of alemtuzumab monotherapy in treatment naive, relapsed and refractory severe acquired aplastic anemia. *Blood* 2012; 119: 345–354.
 30. Risitano A.M., Delleri C., Serio B. i wsp. Alemtuzumab is safe and effective as immunosuppressive treatment for aplastic anemia and single-lineage marrow failure: a pilot study from the EBMT WP SAA. *Br. J. Haematol.* 2010; 148: 791–796.
 31. Gomez-Almaguer D., Jaime-Perez J.C., Garza-Rodriguez V. i wsp. Subcutaneous alemtuzumab plus ciclosporine for the treatment of aplastic anemia. *Ann. Hematol.* 2010; 89: 299–303.
 32. Gluckman E., Devergie A., Poros A., Degoulet P. Results of immunosuppression in 170 cases of severe aplastic anemia. Report of the European Group of Bone Marrow Transplant (EGBMT). *Br. J. Haematol.* 1982; 51: 541–550.
 33. Issaragrisil S., Piankijagum A. Methylprednisolone treatment in aplastic anemia. *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* 1986; 4: 29–32.
 34. Aljurf M., Al-Zahrani H., Van Lint M.T., Passweg J.R. Standard treatment of acquired SAA in adult patients 10–40 years old with an HLA-identical sibling donor. *Bone Marrow Transplant.* 2013; 48: 178–179.
 35. Storb R., Blume K.G., O'Donnell M.R. i wsp. Cyclophosphamide and antithymocyte globulin to condition patients with aplastic anemia for allogeneic marrow transplantation: the experience in four centers. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2001; 7: 39–44.
 36. Konopacki J., Porcher R., Robin M. i wsp. Long-term follow up after allogeneic stem cell transplantation in patients with severe aplastic anemia after cyclophosphamide plus antithymocyte globulin conditioning. *Haematologica* 2012; 97: 710–716.
 37. Champlin R.E., Horowitz M.M., van Bekkum D.W. i wsp. Graft failure following bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: risk factors and treatment results. *Blood* 1989; 73: 606–613.
 38. Champlin R.E., Perez W.S., Passweg J.R. i wsp. Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: a randomized controlled study of conditioning regimens. *Blood* 2007; 109: 4582–4585.
 39. Bacigalupo A., Socie G., Schrenzenmeier H. i wsp. Bone marrow versus peripheral blood as stem cell source for sibling transplants in acquired aplastic anemia: survival advantage in all age groups. *Haematologica* 2012; 97: 1142–1148.
 40. Chu R., Brazauskas R., Kan F. i wsp. Comparison of outcomes after transplantation of G-CSF-stimulated bone marrow grafts versus bone marrow or peripheral blood grafts from HLA-matched sibling donors for patients with severe aplastic anemia. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2011; 17: 1018–1024.
 41. Niederwieser D., Pepe M., Storb R., Loughran T.P., Longton G. Improvement in rejection, engraftment rate and survival without increase in graft-versus-host disease by high marrow cell dose in patients transplanted for aplastic anaemia. *Br. J. Haematol.* 1988; 69: 23–28.
 42. Islam M.S., Anoop P., Datta-Nemdharry D. i wsp. Implications of CD34+ cell dose on clinical and haematological outcome of allo-SCT for acquired aplastic anaemia. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45: 886–894.
 43. Locatelli F., Bruno B., Zecca M. i wsp. Cyclosporin A and short-term methotrexate versus cyclosporin A as graft-versus host disease prophylaxis in patients with severe aplastic anemia given allogeneic bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling: results of a GITMO/EBMT randomized trial. *Blood* 2000; 96: 1690–1697.
 44. McCann S., Passweg J., Bacigalupo A. i wsp. The influence of cyclosporin alone, or cyclosporin and methotrexate, on the incidence of mixed haematopoietic chimerism following allogeneic sibling bone marrow transplantation for severe aplastic anaemia. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 39: 109–114.
 45. Lawler M., McCann S., Marsh J.C. Serial chimerism analyses indicate that mixed haematopoietic chimerism influences the probability of graft rejection and disease recurrence following allogeneic stem cell transplantation (SCT) for severe aplastic anaemia (SAA): indication for routine assessment of chimerism post SCT for SAA. *Br. J. Haematol.* 2009; 144: 933–945.
 46. Marsh J.C., Gupta V., Lim Z. i wsp. Alemtuzumab with fludarabine and cyclophosphamide reduces chronic graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation for acquired aplastic anemia. *Blood* 2011; 118: 2351–2357.
 47. Passweg J., Perez W., Eapen M. i wsp. Bone marrow transplants from mismatched related and unrelated donors for severe aplastic anaemia. *Bone Marrow Transplant.* 2006; 37: 641–649.
 48. Chen J., Lee V., Luo C.J. i wsp. Allogeneic stem cell transplantation for children with acquired severe aplastic anaemia: a retrospective study by the Viva-Asia Blood and Marrow Transplantation Group. *Br. J. Haematol.* 2013; 162: 383–391.
 49. Szpecht D., Gorczyńska E., Kałwak K. i wsp. Matched sibling versus matched unrelated allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with severe acquired aplastic anemia: experience of the polish pediatric group for hematopoietic stem cell transplantation. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2012; 60: 225–233.
 50. Bacigalupo A., Socie G., Lanino E. i wsp. Fludarabine, cyclophosphamide, antithymocyte globulin, with or without low dose total body irradiation, for alternative donor transplants, in acquired severe aplastic anemia: a retrospective study from the EBMT-SAA working party. *Haematologica* 2010; 95: 976–982.
 51. Lee J.W., Cho B.S., Lee S.E. i wsp. The outcome of unrelated hematopoietic stem cell transplants with total body irradiation (800 cGy) and cyclophosphamide (120 mg/kg) in adult patients with acquired aplastic anemia. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2011; 17: 101–108.
 52. Marsh J.C., Pearce R.M., Koh M.B. i wsp. Retrospective study of alemtuzumab vs ATG-based conditioning without irradiation for unrelated and matched sibling donor transplants in acquired severe aplastic anemia: a study from the British Society for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2013 Aug 5 (doi: 10.1038/bmt.2013.115) [złożone do druku].
 53. Eapen M., LeRademacher J., Antin J.H. i wsp. Effect of stem cell source on outcomes after unrelated donor transplantation in severe aplastic anemia. *Blood* 2011; 118: 2618–2621.
 54. Passweg J.R., Baldomero H., Gratwohl A. i wsp. The EBMT activity survey; 1990–2010. *Bone Marrow Transplant.* 2012; 47: 906–923.
 55. Gerull S., Stern M., Apperley J. i wsp. Syngeneic transplantation in aplastic anemia: pretransplant conditioning and peripheral

- blood are associated with improved engraftment — an observational study on behalf of the Severe Aplastic Anemia and Pediatric Dideases Working Parties of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica* 2013; 98: 1804–1809.
56. Peffault de Latour R., Putrill D., Ruggeri A. i wsp. Influence of nucleated cell dose on overall survival of unrelated cord blood transplantation for patients with severe acquired aplastic anemia: a study by Eurocord and the Aplastic Anemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2011; 17: 78–85.
 57. Chan K.W., McDonald L., Lim D. i wsp. Unrelated cord blood transplantation in children with idiopathic severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 42: 589–595.
 58. Yamamoto H., Kato D., Uchida N. i wsp. Successful sustained engraftment after reduced-intensity umbilical cord blood transplantation for adult patients with severe aplastic anemia. *Blood* 2011; 117: 3240–3242.
 59. Ruggeri A., Rocha V., Masson E. i wsp. Impact of donor-specific anti-HLA antibodies on graft failure and survival after reduced intensity conditioning-unrelated cord blood transplantation: a Eurocord, Societe Francophone d'Histocompatibilite et d'Immunogenetique (SFHI) and Societe Francaise de Greffe de Moelle et de Therapie Cellulaire (SFGM-TC) analysis. *Haematologica* 2013; 98: 1154–1160.
 60. Im H.J., Koh K.N., Choi E.S. i wsp. Excellent outcome of haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents with acquired aplastic anemia. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2013; 19: 754–759.
 61. Xu L.P., Liu K.Y., Liu D.H. i wsp. A novel protocol for haploidentical hematopoietic SCT without in vitro depletion in the treatment of severe acquired aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant.* 2012; 47: 1507–1512.
 62. Gupta V., Eapen M., Brazauskas R. i wsp. Impact of age on outcomes after bone marrow transplantation for acquired aplastic anemia using HLA-matched sibling donors. *Haematologica* 2010; 95: 2119–2125.
 63. Tichelli A., Socie G., Henry-Amar M. i wsp. Effectiveness of immunosuppressive therapy in older patients with aplastic anemia. *Ann. Intern. Med.* 199; 130: 193–201.
 64. Tichelli A., Schrezenmeier H., Socie G. i wsp. A randomized controlled study in patients with newly diagnosed severe aplastic anemia receiving antithymocyte globulin (ATG), cyclosporine, with or without G-CSF: a study of the SAA Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* 2011; 117: 4434–4441.
 65. Marsh J., Schrezenmeier H., Marin P. i wsp. Prospective randomized multicenter study comparing cyclosporin alone versus the combination of antithymocyte globulin and cyclosporin for treatment patients with non-severe aplastic anemia: a report from the European Blood and Marrow Transplant (EBMT) Severe Aplastic Anaemia Working Party. *Blood* 1999; 93: 2191–2195.
 66. Jaime-Perez J.C., Colunga-Pedraza P.R., Gomez-Ramirez C.D. i wsp. Danazol as first-line therapy for aplastic anemia. *Ann. Hematol.* 2011; 90: 523–527.
 67. Champlin R.E., Horowitz M.M., van Bekkum D.W. i wsp. Graft failure following bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: risk factors and treatment results. *Blood* 1989; 73: 606–616.
 68. German Association of Physicians. Cross-sectional guidelines for therapy with blood components and plasma derivatives. *Transf. Med. Hemother.* 2009; 36: 347–481.
 69. Kelsey P., Murphy M.F., Brown M. i wsp. Guidelines for the use of platelet transfusions. *Br. J. Haematol.* 2003; 122: 10–23.
 70. Dzik W.H. Leucoreduction of blood components. *Curr. Opin. Hematol.* 2002; 9: 521–526.
 71. Nichols W.G., Price T.H., Gooley T., Boeckh M. Transfusion-transmitted cytomegalovirus infection after receipt of leucoreduced blood products. *Blood* 2003; 101: 4195–4200.
 72. Fast L.D. Developments in the prevention of transfusion-associated graft-versus-host disease. *Br. J. Haematol.* 2012; 158: 563–568.
 73. Gafter-Gvili A., Fraser A., Paul M., Leibovici L. Meta-analysis: antibiotic prophylaxis reduces mortality in neutropenic patients. *Ann. Intern. Med.* 2005; 142: 979–995.
 74. Robenshtok E., Gafter-Gvili A., Goldberg E. i wsp. Antifungal prophylaxis in cancer patients after chemotherapy or hematopoietic stem-cell transplantation: systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 5471–5489.
 75. Valdez J.M., Scheinberg P., Young N.S., Walsh T.J. Infections in patients with aplastic anemia. *Semin. Hematol.* 2009; 46: 296–276.
 76. Quillen K., Wong E., Scheinberg P. i wsp. Granulocyte transfusions in severe aplastic anemia: an eleven-year experience. *Haematologica* 2009; 94: 1661–1668.
 77. Gurion R., Gafter-Gvili A., Paul M. i wsp. Hematopoietic growth factors in aplastic anemia patients treated with immunosuppressive therapy — systematic review and meta-analysis. *Haematologica* 2009; 94: 712–719.
 78. Teramura M., Kimura A., Iwase S. i wsp. Treatment of severe aplastic anemia with antithymocyte globulin and cyclosporin A with or without G-CSF in adults: a multicenter randomized study in Japan. *Blood* 2007; 110: 1756–1761.
 79. Bessho M., Hirashima K., Asano S. i wsp. Treatment of the anemia of aplastic anemia patients with recombinant human erythropoietin in combination with granulocyte colony-stimulating factor: a multicenter randomized controlled study. *Multicenter Study Group. Eur. J. Haematol.* 1997; 54: 265–272.
 80. Zheng Y., Liu Y., Chu Y. Immunosuppressive therapy for acquired severe aplastic anemia (SAA): a prospective comparison of four different regimens. *Exp. Hematol.* 2006; 34: 826–831.
 81. Olnes M.J., Scheinberg P., Calvo C.R. i wsp. Eltrombopag and improved hematopoiesis in refractory aplastic anemia. *N. Eng. J. Med.* 2012; 367: 11–19.
 82. Takatoku M., Uchiyama T., Okamoto S. i wsp. Retrospective nationwide survey of Japanese patients with transfusion-dependent MDS or aplastic anemia highlights the negative impact of iron overload on morbidity/mortality. *Eur. J. Haematol.* 2007; 78: 487–494.
 83. Pullarkat V., Blanchard S., Tegtmeier B. i wsp. Iron overload adversely affects outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 42: 799–805.
 84. Poggiali E., Cassinero E., Zanaboni L., Cappellini M.D. An update on iron chelation therapy. *Blood Transf.* 2012; 10: 411–422.
 85. Gattermann N. The treatment of secondary hemochromatosis. *Deutsches Ärzteblatt* 2009; 106: 499–504.
 86. Lee J.W., Yoon S., Shen Z.X. i wsp. Hematologic responses in patients with aplastic anemia treated with deferasirox: a post-hoc analysis from the EPIC study. *Haematologica* 2013; 98: 1045–1048.
 87. Majhail N.S., Lazarus H.M., Burnd L.J. Iron overload on hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 41: 997–1003.
 88. Angelucci E., Muretto P., Lucarelli G. i wsp. Phlebotomy to reduce iron overload in patients cured of thalassemia by bone marrow transplantation. Italian Cooperative Group for Phlebotomy Treatment of Transplanted Patients. *Blood* 1997; 90: 994–998.