

UOC Ematologia

Direttore: Dr Bruno Martino

UOC CTMO

Direttore: Dr Massimo Martino

Percorso Diagnostico Terapeutico Assistenziale (PDTA) nell' Anemia Aplastica
Procedura condivisa dalle U.O.C. C.T.M.O ed Ematologia

Redatto il 12/06/2018 da:

Dr.ssa Barbara Loteta, UOC CTMO, Grande Ospedale Metropolitano Reggio Calabria

Dr.ssa Caterina Alati, UOC Ematologia, Grande Ospedale Metropolitano Reggio Calabria

Dr.ssa Virginia Naso, UOC CTMO, Grande Ospedale Metropolitano Reggio Calabria

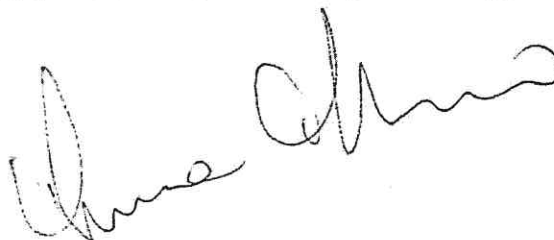
Dr.ssa Esther Oliva, UOC Ematologia, Grande Ospedale Metropolitano Reggio Calabria

Dr.ssa Giulia Pratico', UOC Ematologia, Grande Ospedale Metropolitano Reggio Calabria

Revisionato e validato il 29/06/2018 da:

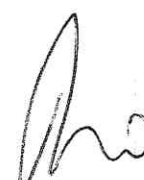
Dr. Massimo Martino, Direttore UOC CTMO, Grande Ospedale Metropolitano Reggio Calabria

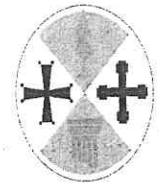
Dr. Bruno Martino, Direttore UOC Ematologia, Grande Ospedale Metropolitano Reggio Calabria



Sommario

| | |
|--|--|
| 1. Gruppo di lavoro | 3 |
| 2. Obiettivi | 3 |
| 3. Introduzione..... | 3 |
| 4. Accesso del paziente e valutazione iniziale | 5 |
| 5. Diagnosi Differenziale | 6 |
| 5. Informazione del paziente | 11 |
| 6. Trattamento convenzionale..... | 11 |
| 7. Trapianto Di Cellule Staminali Emopoietiche | 20 |
| 7.1 Trapianto Allogénico Da Donatore Familiare Hla Identico | 20 |
| 7.2 Trapianto Allogénico Da Donatore Non Familiare..... | 21 |
| 7.3 Trapianto Allogénico Da Donatore Alternativo: Trapianto Da Cordone Non Familiare E Trapianto Da Familiare Aploidéntico | Errore. Il segnalibro non è definito. |
| 8. Valutazione Della Risposta Ematologica | 21 |
| Esami per la valutazione della risposta..... | 21 |
| Definizione di Risposta Completa, Risposta Parziale e Non Risposta nei pazienti SAA e VSAA | 22 |
| Definizione di Risposta Completa, Risposta Parziale e Non Risposta nei pazienti NSAA | 22 |
| 9. Follow-Up..... | 22 |
| 12. Terapia Di Supporto | 26 |
| Trasfusione Di Emocomponenti..... | 26 |
| BIBLIORAFIA ESSENZIALE | 33 |





UOC Ematologia

UOC CTMO

Direttore: Dr Bruno Martino

Direttore: Dr Massimo Martino

1. Gruppo di lavoro

Il presente PDTA è stato redatto da:

- Dr.ssa Barbara Loteta, UOC CTMO, Grande Ospedale Metropolitano Reggio Calabria
- Dr.ssa Caterina Alati, UOC Ematologia, Grande Ospedale Metropolitano Reggio Calabria
- Dr.ssa Virginia Naso, UOC CTMO, Grande Ospedale Metropolitano Reggio Calabria
- Dr.ssa Esther Oliva, UOC Ematologia, Grande Ospedale Metropolitano Reggio Calabria
- Dr.ssa Giulia Pratico', UOC Ematologia, Grande Ospedale Metropolitano Reggio Calabria

Revisionato e validato il 12/06/2018 da:

- Dr. Massimo Martino, Direttore UOC CTMO, Grande Ospedale Metropolitano Reggio Calabria
- Dr. Bruno Martino, Direttore UOC Ematologia, Grande Ospedale Metropolitano Reggio Calabria

2. Obiettivi

Gli obiettivi del seguente PDTA sono quelli di rendere omogeneo il percorso diagnostico terapeutico dei pazienti affetti da anemia aplastica (AA) afferenti al Dipartimento di Oncoematologia e Radioterapia del Grande Ospedale Metropolitano di Reggio Calabria, di personalizzare il trattamento secondo l'età e le condizioni del paziente, di ottimizzare ed uniformare l'impiego delle risorse terapeutiche. Le raccomandazioni sono basate su review di letteratura usando MEDLINE e PUBMED fino a dicembre 2017 digitando "Aplastic Anemia"

3. Introduzione

Il termine APLASIA MIDOLLARE (AA), definisce una condizione patologica caratterizzata da pancitopenia periferica dovuta a ridotta o assente produzione di cellule ematiche da parte del midollo osseo. Tale disordine può essere congenito o acquisito.

Si distinguono in:

Congenite

- Anemia di Fanconi
- Discheratosi congenita
- S. di Shwachman-Diamond
- Disgenesia reticolare
- S. di Pearson
- Trombocitopenia

- Congenita Amegacariocitica

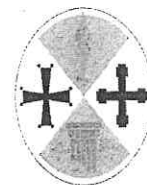
Acquisite

L'AA Acquisita (AAA) è una sindrome di insufficienza midollare caratterizzata da pancitopenia periferica e ipoplasia del midollo osseo. E' una rara malattia con incidenza nel mondo occidentale di 2 nuovi casi/anno/milione di abitanti. L'ipotesi fisiopatogenetica più accreditata per AAA è che la distruzione delle cellule staminali emopoietiche midollari sia immunomediata. Cloni T autoreattivi libererebbero citochine mielosoppressive fra cui TNF e INF le quali, bloccando la mitosi e aumentando l'apoptosi, distruggerebbero le cellule staminali midollari. Nei pazienti aplastici è stata dimostrata l'eccessiva produzione di TNF e INF nelle cellule CD4+ e CD8+ midollari. La patogenesi immunomediata è confermata dalla risposta alla terapia immunosoppressiva(IST) (ciclosporina + ATG). Il percorso del paziente con AA riconosce una fase diagnostica (durante la quale viene formulata una diagnosi conclusiva di AA e impostato un piano terapeutico in base alle caratteristiche della malattia e dello stato di salute generale del paziente) e una fase gestionale-terapeutica (durante la quale vengono implementate procedure di trattamento e di assistenza funzionali alle necessità cliniche del paziente, nonché procedure di monitoraggio nel tempo dell'andamento della malattia)

Si distinguono due forme:

- Primitiva (idiopatica)
- *Secondarie*
 - Radiazioni,
 - Agenti chimici e farmaci,
 - Virus: Epstein-Barr, Epatiti, Parvovirus, HIV,
 - Malattie Autoimmuni: Fascite eosinofila,
 - Ipoimmunoglobulinemia,
 - Timoma,
 - Gravidanza,
 - Emoglobinuria Parossistica Notturna





UOC Ematologia

UOC CTMO

Direttore: Dr Bruno Martino

Direttore: Dr Massimo Martino

L' AAA può essere differenziata, a seconda della gravità, in 3:

| MODERATAMENTE GRAVE (NON SEVERE) | GRAVE (SEVERE) | MOLTO GRAVE (VERY SEVERE) |
|--|--|--|
| cellularità emopoietica del midollo osseo <30% Neutrofili >500 < 1000 | cellularità emopoietica del midollo osseo <30% con almeno due delle seguenti condizioni: Neutrofili 200 – 500 Piastrine < 20.000 Reticolociti < 20 x 10 ⁹ /L | cellularità emopoietica del midollo osseo <30%, Neutrofili < 200 con almeno una delle seguenti condizioni: Piastrine < 20.000 Reticolociti < 20x10 ⁹ /L |

4. Accesso del paziente e valutazione iniziale

L'accesso del paziente a valutazione ematologica specialistica avviene in seguito al riscontro di citopenia del sangue periferico (anemia, leucopenia, piastrinopenia) all'esame emocromocitometrico. Il sospetto clinico di AA viene posto una volta eseguiti una serie di accertamenti di primo livello che escludano le principali cause di citopenia secondaria.

Valutazione Diagnostica

Il work up diagnostico deve essere estensivo ed accurato al fine di:

- confermare la diagnosi e definire la gravità dell'aplasia;
- escludere altre possibili cause di pancitopenia con midollo ipocellulare;
- evidenziare o escludere forme costituzionali/ereditarie;
- evidenziare l'eventuale agente causale;
- evidenziare o escludere la presenza di coesistente clone citogenetico o emoglobinuria parossistica notturna (EPN)

Esami fondamentali nell'iter diagnostico iniziale

- Anamnesi: familiare e personale mirata a valutare eventuali esposizioni a sostanze ematotossiche (vedi Tabella 1) e/o infezioni. La principale infezione che può precedere una aplasia acquisita è un'epatite, la cui eziologia è stata attribuita sporadicamente a vari agenti virali epatitici (HAV, HBV, HCV, HDV, HEV, HGV) e non (Parvovirus B19, CMV, EBV, HHV6, Transfusion Transmitted Virus,




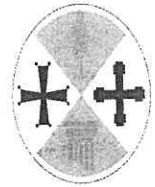
non-A-E Hepatitis Virus) ma, nella maggior parte dei casi, non viene identificato nessun agente virale.

- Esame Clinico: deve includere lo stato di accrescimento staturale-ponderale e va mirato ad escludere la presenza di malformazioni, macchie cutanee, distrofia ungueale, microcefalia, ipogonadismo, alterazioni orofaringee (eritro/leucoplachia), tutti elementi caratteristici delle forme congenite. I segni ed i sintomi della patologia sono legati alla gravità della pancitopenia (pallore, astenia, tachicardia, infezioni e/o febbre, petecchie, ecchimosi, emorragie, etc.), in assenza di epatosplenomegalia e linfadenomegalia.
- Esame emocromocitometrico: caratterizzato da anemia normocromica normocitica o macrocitica, neutropenia e piastrinopenia; nelle fasi iniziali può esserci una citopenia isolata, in genere piastrinopenia, con piastrine di basso volume.
- Striscio di sangue periferico: sono assenti i blasti, le emazie presentano anisopoichilocitosi e frequentemente macrocitosi; i neutrofili possono presentare granulazioni tossiche. In generale mancano le alterazioni morfologiche di monociti, neutrofili ed eritrociti tipiche della mielodisplasia (MDS).
- Conta reticolocitaria: caratterizzata da marcata reticolocitopenia: reticolociti <20.000/mm³ se metodo manuale, <60.000/mm³ se con contaglobuli automatizzato, perché lo strumento può sovrastimare i valori bassi,
- Aspirato midollare: non consente, da solo, una corretta valutazione della cellularità emopoietica del midollo osseo, in quanto un midollo osseo ipocellulare può essere legato a problemi tecnici di aspirazione e, raramente, può anche accadere di osservare una cellularità normale, qualora il prelievo sia stato fatto in una delle isole di ematopoiesi ancora conservate.
- Biopsia osteomidollare: è l'esame diagnostico elettivo che evidenzia riduzione delle cellule emopoietiche globali a meno del 30%, con aumento diffuso e uniforme delle cellule adipose. Al contrario dell'aspirato midollare, offre la possibilità di valutare comparativamente la componente cellulare emopoietica e non (grasso, stroma, reticolo), mostrando così una effettiva riduzione delle cellule emopoietiche; ciò aiuta a differenziare le AA dalle leucemie ipocellulari dove sono presenti i blasti e dalle MDS in cui sono in genere presenti dis-eritro/dis-mielo e dis-megacariocitopoiesi.

5. Diagnosi Differenziale

Mira ad escludere le leucemie e le MDS ipocellulari, le forme di aplasia in un contesto di malattia autoimmune definita e le forme genetico-costituzionali.





UOC Ematologia

UOC CTMO

Direttore: Dr Bruno Martino

Direttore: Dr Massimo Martino

- Leucemia ipocellulare: una AA può essere simulata da leucemie acute sia mieloidi sia linfatiche con esordio a bassa carica blastica (fenomeno che può perdurare anche per alcune settimane). Generalmente non vi è aumento del tessuto adiposo che è invece tipico nelle AA. In caso di sospetto esordio ipocellulare di leucemia si raccomanda la ricerca di marcatori molecolari di monoclonalità. Un altro criterio orientativo verso la leucemia è la presenza di cellule CD34+ e CD117+. La biopsia ossea può consentire diagnosi di AL in caso di aspirazione inefficace.
- Mielodisplasia ipocellulare: circa il 20% delle MDS si presenta con midollo ipocellulare. La differenziazione fra MDS ipocellulare e AA può essere molto difficoltosa. La maggiore accentuazione delle stimate displastiche all'aspirato, la presenza di ALIP (anormale localizzazione centrolacunare delle cellule della serie bianca in maturazione), di isolotti di eritropoiesi immatura insieme con la dimostrazione di fibrosi e la distribuzione disomogenea del tessuto adiposo alla biopsia ossea, sono marcatori caratteristici anche se non tassativi delle MDS. I segni di displasia distinti per linea ematopoietica sono i seguenti: Serie megacariocitaria: elementi di piccole dimensioni (simili a quelle delle cellule mieloidi circostanti) con singolo nucleo centrale o nucleo bilobato e scarso citoplasma granuloso, che sono definiti con il termine di micromegacariociti. Possono essere presenti anche elementi di dimensioni maggiori con nucleo singolo, ovoido, eccentrico o con numerosi piccoli nuclei rotondi separati. Serie eritroblastica: megaloblastosi (incremento quantitativo della quota citoplasmatica), binuclearità o polinuclearità, gemmazioni o lobulazioni nucleari, ponti internucleari, carioressi, picnosi nucleare, inclusioni citoplasmatiche come corpi di Howell-Jolly e punteggiatura basofila, sfrangiature del citoplasma, incompleta emoglobinnizzazione, vacuolizzazione del citoplasma, asincronismo maturativo nucleo/citoplasmatico. Patognomonica di displasia è la presenza di sideroblasti ad anello. Serie mieloide: anisocitosi, presenza di nuclei ipolobati (pseudo-Pelger-Huët) o ipersegmentati, forme nucleari bizzarre, ipogranulazione o degranulazione, asincronia maturativa nucleo/citoplasmatica, presenza di granuli pseudo Chediak-Higashi, corpi di Auer. I criteri morfologici minimi prevedono che almeno il 10% di ogni linea cellulare deve possedere segni inequivocabili di displasia.
- Nota sullo studio citogenetico midollare: in circa la metà dei casi di MDS ipocellulari sono riscontrabili anomalie citogenetiche (monosomia del cromosoma 7, trisomia del cromosoma 8 o del cromosoma 21, altre anomalie complesse o più di 2 alterazioni). Generalmente nelle aplasie midollari lo studio citogenetico è normale anche se in circa il 10-12% dei casi può individuarsi un clone citogenetico patologico. Nel midollo aplastico spesso è difficile ottenere materiale sufficiente per l'analisi del cariotipo per cui si consiglia, in caso di materiale insufficiente, di ripetere più volte il prelievo. In

alternativa l'analisi FISH permette di visualizzare anomalie cromosomiche specifiche nelle cellule in interfase.

- Aplasie genetiche e/o costituzionali: sono in genere associate a segni e sintomi somatici (ritardo di accrescimento staturo-ponderale, dispigmentazione cutanea, distrofia di unghie ed annessi, malformazioni viscerali, alterazioni scheletriche, alterazioni metaboliche) che le rendono identificabili. Può però accadere che alcune forme genetiche presentino un fenotipo sfumato o normale (Anemia di Fanconi, alcune forme di DKC, trombocitopenia amegacariocitica congenita, Anemia di Blackfan-Diamond, Sindrome di Shwachman-Diamond). I soggetti con mutazioni TERT o TERC spesso sono asintomatici e con familiarità negativa. Le mutazioni TERT e TERC sono considerate piuttosto fattori di rischio anziché fattori genetici di insufficienza midollare; i soggetti con mutazioni di tali geni tendono ad avere ipocellularità midollare, ridotto numero di cellule CD34+ e di progenitori emopoietici, ma l'emocromo è normale o con solo lievi anomalie quali la macrocitosi. Pertanto, lo studio della lunghezza dei telomeri sarebbe auspicabile in tutti i casi di insufficienza midollare; inoltre in caso di trapianto lo studio genetico dei potenziali donatori familiari è cruciale al fine di evitare discegliere un donatore con la stessa mutazione e quindi una inadeguata riserva di cellule staminali

Il work-up per le AA prevede una serie di esami biochimici, genetici e strumentali, alcuni identificati come obbligatori, altri come ancillari. Di seguito le tabelle di riferimento (Tabella 3a, 3b).



Tabella 3a. Work-up diagnostico per la diagnosi di Anemia Aplastica (32)

| ESAMI DIAGNOSTICI OBBLIGATORI | Forniscono informazioni su: |
|---|--|
| Esame emocromocitometrico completo | Diagnosi e definizione di gravità |
| Conta dei reticolociti (con contaglobuli automatico o microscopio) | Diagnosi e definizione di gravità |
| Striscio di sangue periferico | Diagnosi differenziale |
| Esami di funzionalità epatica | Associazione con infezione epatica |
| Indagini per la ricerca di virus epatitici (sierologia e ricerca genoma DNA/RNA). L'RNA genomico dei virus ad RNA (HCV, HDV, HEV ed HGV) può essere qualitativamente valutato mediante tecnica di RT-PCR; il DNA del Parvovirus B19 può essere valutato mediante Nested-PCR. Tutte le suddette indagini, insieme a quelle per EBV, CMV ed altri virus, possono essere eseguite anche su midollo osseo | Associazione con epatite o altra infezione |
| Aspirato midollare per analisi morfologica, analisi citogenetica con esecuzione opzionale di FISH (per monosomia 7, trisomia 8, delezione del 5q, etc.), analisi immunofenotipica, e colorazioni per il ferro | Diagnosi, diagnosi differenziale, prognosi |
| Biopsia osteomidollare con immuno-evidenziazione degli antigeni CD34 e CD117 | Diagnosi, diagnosi differenziale, prognosi |
| Ricerca di cloni PNH mediante citofluorimetria multiparametrica. Valutazione di campioni di sangue periferico con ricerca dei cloni PNH nelle popolazioni dei neutrofili, dei monociti e degli eritrociti (se non trasfusi) | Associazione con cloni PNH. Diagnosi, diagnosi differenziale, prognosi |
| Analisi citofluorimetrica dell'aspirato midollare: ricerca di popolazioni monoclonali B- o T-cellulari, popolazioni di blasti. Ricerca di pattern anomali di maturazione/differenziazione come segno di displasia | Diagnosi differenziale con neoplasie mieloidi Associazione con linfoma |
| Screening per autoanticorpi (pannello in funzione della presentazione clinica). Inclusi anticorpi anti-nucleo ed anti-DNA se sospetto LES sottostante | Associazione con malattie autoimmuni |
| Dosaggio di vitamina B12, acido folico | Esclusione di deficit vitaminico |
| Fibrinogeno, Ferritina | Diagnosi differenziale con la sindrome emofagocitica |
| Elastasi pancreatico fecale, amilasi e lipasi sieriche | Diagnosi differenziale con sindrome di Shwachman |
| Dosaggio di bilirubina sierica ed LDH | Indici aspecifici. Possono aumentare in caso di eritropoiesi inefficace di modesta entità |
| Rx-torace | Esclusione di infezioni |
| Ecografia addome ed ecocardiogramma | Diagnosi differenziale: 1) Aumento di volume di milza e/o linfonodi (malattia ematologica maligna); 2) Malformazione o malposizione di organi (Anemia di Fanconi). |

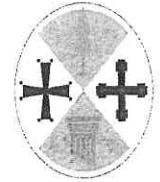
| ESAMI DIAGNOSTICI ANCILLARI (continuazione della tabella 3a) | |
|---|---|
| Ricerca di infezioni micobatteriche (soprattutto micobatteri atipici, meno frequentemente TBC). | Se infezione sospetta. Colture di sangue midollare, colorazioni per bacilli acido-alcol resistenti su campioni istologici. |
| Test in vitro sulle colonie (risultati non ben standardizzati, non eseguibili in tutti i centri) | Il pattern di crescita può essere utile nella diagnosi differenziale tra insufficienza midollare e MDS. |
| RMN della colonna vertebrale | Midollo uniformemente sostituito da tessuto adiposo nella AA vs chiazze miste di midollo ipo- ed ipercellulare nella MDS. |

(tabella 3a, continua)

Tabella 3b. Screening per la ricerca dei disordini ereditari

| SCREENING PER LA RICERCA DI DISORDINI EREDITARI OBBLIGATORI | Forniscono informazioni su: |
|--|---|
| La sensibilità cromosomica alla MMC o al DEB test rappresenta il golden standard per la diagnosi di Anemia di Fanconi. | 1) In pazienti di età < 50 anni se si sospetta una Anemia di Fanconi; 2) In paziente candidato ad HSCT (rilevante per la scelta del regime di condizionamento). |
| Analisi delle mutazioni di TERC | Diagnosi differenziale con forme nascoste di DKC autosomica dominante. L'1-10% di tutte le forme idiopatiche sono positive. |
| Analisi delle mutazioni di TERT | In pazienti non rispondenti a IST. |
| SCREENING PER LA RICERCA DI DISORDINI EREDITARI ANCILLARI | Forniscono informazioni su: |
| Indagini su TINF2, NHP2, NOP10, DKC1 | Quando riconoscibile un fenotipo DKC. |
| Indagini su cMPL | Tutti i pazienti con Trombocitopenia Amegacariocitica Congenita hanno mutazioni "loss of function" nel gene <i>c-Mpl</i> per il recettore della TPO. Utile nella diagnosi differenziale con la anemia aplastica nei primi anni di vita e per identificare potenziali non candidati all'uso di agonisti della TPO. |
| Geni SDS | Su sospetto clinico |
| Misurazione della lunghezza dei telomeri | Esame di screening se sospetto di forme congenite. Esame obbligatorio se sospetta DKC. Marker di evoluzione clonale nelle forme acquisite. |

È raccomandata la tipizzazione HLA alla diagnosi sia del paziente sia dei familiari (anche per DRB1*15 che potrebbe essere predittiva di risposta alla immunosoppressione nei pazienti con AA). Se non è disponibile un donatore familiare HLA identico, è consigliato avviare nel work-up iniziale la ricerca di un donatore nei registri internazionali per fornire ai pazienti destinati a non rispondere alla



UOC Ematologia

UOC CTMO

Direttore: Dr Bruno Martino

Direttore: Dr Massimo Martino

terapia immunosoppressiva (IST) (valutati al giorno +120 dall'inizio della suddetta terapia) la migliore possibilità terapeutica, nel minor tempo possibile.

5. Informazione del paziente

Al termine delle procedure diagnostiche e della raccolta di tutte le variabili prognostiche il paziente deve essere correttamente informato della diagnosi della malattia e delle aspettative prognostiche attese. Il paziente deve essere edotto delle opzioni terapeutiche che si ritengono più opportune a seconda del tipo di malattia e delle condizioni cliniche generali, con illustrazione del profilo di rischio/beneficio, e descrizione delle fasi del processo terapeutico tale a garantire al paziente un adeguato quadro. Ogni terapia sarà preceduta da raccolta di consenso informato scritto del paziente secondo procedure aziendali specifiche.

6. Trattamento convenzionale

Considerazioni Generali

- Il trattamento dei pazienti con AA va effettuato in centri specialistici di comprovata competenza nella gestione di pazienti con insufficienza midollare. Il centro deve garantire servizi e presidi idonei ad un rapido approvvigionamento di farmaci immunosoppressori specifici, una ottimale terapia di supporto trasfusionale ed antinfettivo, un'adeguata gestione medico/infermieristica. L'iter diagnostico-terapeutico da intraprendere in un paziente con pancitopenia idiopatica è estremamente complesso. In attesa di stabilire con certezza la diagnosi di AA ed il grado di severità è indicato un periodo di osservazione durante il quale va praticata la sola terapia di supporto. È inoltre raccomandabile che le condizioni cliniche del paziente, in termini di controllo emorragico e trattamento delle infezioni, vengano stabilizzate prima dell'avvio del trattamento.

Il trattamento specifico si basa sul ripristino della ematopoiesi attraverso il trapianto di cellule staminali emopoietiche o l'avvio di terapia immunosoppressiva.

- Il trapianto di cellule staminali allogenico (TCSA) da donatore familiare HLA compatibile è l'opzione di prima scelta perché rappresenta una possibilità di cura definitiva ed il suo impiego si associa ad un tasso di sopravvivenza superiore al 90%. Esiste un accordo generale da parte della comunità scientifica sul fatto che pazienti che dispongano di un donatore familiare HLA identico debbano essere avviati a TCSA, utilizzando, ove possibile, cellule staminali emopoietiche midollari. In caso di mancanza di donatore familiare HLA identico il trattamento di prima linea è la IST combinata con siero antilinfocitario di cavallo e ciclosporina
- L'impiego della IST trova il suo razionale nella possibilità di sopprimere la disregolazione immune, presente nelle AA, utilizzando farmaci ad azione immunosoppressiva antilinfocitaria (siero



antilinfocitario, ciclosporina ed eventuali altri agenti), con elevate percentuali di successo e di sopravvivenza a lungo termine, così da farne la terapia di prima scelta nei pazienti con AA severa privi di un donatore familiare.

- Il trapianto da donatore non familiare HLA compatibile trova indicazione nei pazienti privi di donatore familiare compatibile con forme severe o trasfusione-dipendenti non responsive o recidivate dopo IST.

Pazienti con AA Non Grave Trasfusione Indipendenti

- I pazienti con NSAA sono trasfusione-indipendenti in circa un terzo dei casi e possono presentare remissione spontanea senza trattamento specifico. I restanti casi possono progredire verso la forma severa o presentare un quadro ematologico stabile per mesi o anni. L'avvio precoce di terapia con ciclosporina (CsA) e stanozololo è efficace nel trattamento dei pazienti pediatrici con NSAA trasfusione-indipendenti. Data la potenziale tossicità della IST e la mancanza di alto livello di evidenza circa i benefici di un avvio precoce della stessa nei pazienti con NSAA trasfusione-indipendenti, appare ragionevole un periodo di osservazione e supporto, seguito da un trattamento specifico (IST combinata o TCSA da familiare compatibile) soltanto in caso di progressione della malattia.

Pazienti con AA associata ad Epatite

- La risposta al trattamento e le variabili predittive sono comparabili a quelle osservate nei pazienti con AA senza epatite.

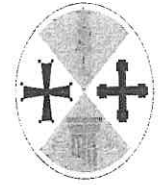
Pazienti con AAA in gravidanza

- Il supporto trasfusionale rappresenta il cardine del trattamento della citopenia in corso di gravidanza ma non è esclusa la possibilità di una terapia immunosoppressiva. La CsA si è dimostrata sicura ed efficace in questo setting di pazienti.

Terapia Immunosoppressiva

- La IST combinata, ovvero l'associazione di ATG e CsA, costituisce il trattamento di prima linea più efficace per i pazienti affetti da AA che non dispongano di un donatore familiare HLA identico. Nella SAA la terapia combinata ha consentito di raggiungere una percentuale di risposte ematologiche ed un tasso di sopravvivenza libera da eventi significativamente superiore rispetto a quanto ottenuto nei pazienti trattati con la sola ATG; anche nel setting di pazienti con NSAA trasfusione-dipendente la combinazione di ATG e CsA è risultata più efficace della CsA in monoterapia. Un tapering più lento e graduale della CsA è stato associato ad una riduzione del tasso di recidiva sia nella popolazione adulta. I pazienti in recidiva dopo una iniziale risposta al primo ciclo di IST possono giovare nuovamente dell'immunosoppressione, la quale offre una possibilità di sopravvivenza del 75%; anche un terzo ciclo di IST può costituire una opzione ragionevole, in assenza di un donatore HLA identico, nei pazienti che hanno precedentemente risposto a suddetta terapia. I pazienti che non rispondono ad un primo ciclo IST possono rispondere ad una seconda IST. La possibilità di risposta





UOC Ematologia

UOC CTMO

Direttore: Dr Bruno Martino

Direttore: Dr Massimo Martino

ad un secondo ciclo è del 30-60% , sia con un secondo ciclo di ATG di cavallo sia con ATG di coniglio dopo mancata risposta ad ATG di cavallo . In caso di fallimento al secondo ciclo la probabilità di risposta ad una terza IST è molto ridotta. I pazienti refrattari alla IST presentano, verosimilmente, una malattia con fisiopatologia differente, ma al momento non sono disponibili strumenti e parametri sufficienti a distinguerli dai pazienti responsivi. Una identificazione precoce dei casi sicuramente refrattari alla immunosoppressione sarebbe auspicabile al fine di avviarli precocemente a TCSA da donatore alternativo. Per i pazienti privi di un donatore non familiare HLA identico (inteso come con al massimo 1 antigene mismatched/10) e che sono refrattari ad un secondo ciclo di IST va valutato un terzo ciclo.

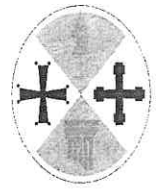
Globulina Antilinfocitaria

- L'ATG, globulina policlonale, è la frazione purificata di IgG ottenuta da sieri di animali (cavallo o coniglio) immunizzati con timociti umani o con linee T-cellulari. La sua azione immunosoppressiva è legata principalmente alla deplezione dei linfociti circolanti attraverso la lisi complemento-mediata, l'attivazione T-cellulare e l'apoptosi; altri potenziali meccanismi d'azione includono la modulazione di molecole di adesione o l'espressione di recettori chemochinici e l'induzione di cellule T regolatrici (Treg CD4+CD25+). In Europa la preparazione standard di ATG è stata, sino ad alcuni anni fa, la ATG di cavallo (Horse ATG, Lymphoglobuline, Genzyme), impiegata in tutti gli studi cooperativi sino al 2009. Negli USA è stata utilizzata una preparazione di ATG di cavallo (ATGAM, Pfizer) ad un dosaggio leggermente diverso (40 mg/kg x 4 giorni) rispetto alla Lymphoglobuline che era impiegata a 15 mg/kg x 5 giorni. Nel 2007 in Europa la preparazione equina è stata ritirata dal commercio e sostituita con ATG di coniglio (Rabbit ATG, Thymoglobuline, Genzyme), spesso utilizzata, in precedenza, nella terapia immunosoppressiva di seconda linea. L' ATG di coniglio e quella di cavallo hanno un analogo metodo di produzione, si legano ad epitopi simili e sono in grado di determinare una deplezione dei Linfociti T Citotossici CD8+ sovrapponibile. Tuttavia l'impiego di ATG di coniglio si associa ad una deplezione più profonda dei Linfociti T CD4+. Rispetto all'ATG di cavallo, Thymoglobuline ha una maggiore emivita, una maggiore affinità per i linfociti umani, determina un periodo di linfopenia più lungo ed ha pertanto un potere immunosoppressivo maggiore. Diversi studi, pilota e retrospettivi, hanno confrontato gli outcome dei pazienti trattati con ATG di cavallo con quelli dei pazienti trattati con ATG di coniglio. In un recente studio prospettico randomizzato, condotto su pazienti pediatrici ed adulti affetti da AA, è stato dimostrato che la risposta ematologica dopo trattamento con ATG di coniglio è nettamente inferiore a quella ottenuta con ATG di cavallo (37% vs 68%). Anche la sopravvivenza nel braccio di ATG di coniglio è stata largamente inferiore (76%) a quella osservata nel braccio trattato con ATG di cavallo (96%). Uno studio multicentrico europeo ha confrontato i risultati di una terapia immunosoppressiva con ATG di coniglio

(Thymoglobulin, Genzyme) e CsA nel trattamento di prima linea di 35 pazienti con AA con i risultati ottenuti in 105 pazienti, del registro EBMT, trattati con ATG di cavallo e CsA. Il trattamento con ATG di coniglio e CsA rispetto ad ATG di cavallo ha mostrato una percentuale di risposta inferiore (60% vs 67%), una sopravvivenza complessiva (68% vs 86%) e libera da successivo trapianto (52% vs 76%) minori ed una risposta tardiva simile. Non sono però al momento disponibili in letteratura studi ad alto livello di evidenza che dimostrino superiorità dell'ATG di coniglio rispetto a quello di cavallo. ***Si conferma pertanto che l'associazione di ATG di cavallo con CsA resta la terapia di prima linea più efficace per la cura dei pazienti affetti da AA acquisita grave che non dispongono di donatore familiare HLA identico. Si raccomanda, per il primo ciclo immunosoppressivo l'utilizzo di ATG di cavallo. L'uso di ATG di coniglio (Thymoglobuline) va limitato solo ai casi di assoluta indisponibilità di ATG di cavallo (ATGAM), data la documentata inferiorità in termini di efficacia.***

Dose e modalità di somministrazione

- La dose giornaliera di ATG di cavallo (ATGAM) è di 40 mg/kg/die per 4 giorni mentre quella di ATG di coniglio (Thymoglobulin) è 3.75 mg/kg/die per 5 giorni; entrambe vengono somministrate per via endovenosa tramite CVC in un tempo non inferiore alle 12-18 ore. Nella scheda tecnica viene riportata l'indicazione ad eseguire un test cutaneo per valutare l'eventuale ipersensibilità al farmaco e avviare un protocollo di desensibilizzazione nei soggetti con test positivo; tuttavia l'esperienza maturata in ambito pediatrico ha portato a considerare tale test non strettamente necessario. Si raccomanda, invece, un'adeguata premedicazione antiallergica ed antipiretica con steroide, acetaminofene e difenilidramina. Durante il trattamento il numero delle piastrine dovrebbe essere mantenuto sopra 30.000/mmc; le stesse non vanno infuse contemporaneamente alla somministrazione di ATG a causa di un'attività anti-piastrinica dell'ATG. In caso di refrattarietà alla trasfusione piastrinica si devono ricercare gli alloanticorpi per determinare la necessità di prodotti piastrinici sprovvisti dell'antigene contro cui è diretto l'alloanticorpo. Vanno utilizzate, allo scopo di ridurre le reazioni trasfusionali, piastrine filtrate e irradiate in accordo con le recenti raccomandazioni di uno studio EBMT. I pazienti devono essere ricoverati in ambiente protetto. In caso di febbre, anche se verosimilmente secondaria ad infusione di ATG, è consigliato, in via precauzionale, trattamento con antibiotici ad ampio spettro: la terapia va sospesa prontamente se il paziente appare clinicamente stabile e gli esami colturali risultano negativi. Per ridurre il rischio di reazioni dovute all'infusione dell'ATG (sindrome acuta da rilascio di citochine e malattia da siero che tipicamente insorge tra il settimo ed il quattordicesimo giorno dall'inizio dell'ATG) è indicato l'impiego di metilprednisolone 1-2 mg/Kg/die endovena (in aggiunta a paracetamolo) per 14 giorni dopo l'inizio del siero, somministrandolo almeno 30 minuti prima di ciascuna dose di ATG, dimezzando la dose ogni 7 giorni a partire dal giorno +15 fino allo stop il giorno +28. Dopo i primi 7 giorni il prednisone per via orale può sostituire la somministrazione endovenosa. Se durante l'infusione dell'ATG si osservano gravi reazioni (brividi scuotenti, broncospasmo, ipotensione) si può sospendere l'infusione di ATG che può, a reazione superata, essere riavviata ad una velocità inferiore (superando anche le 24 ore d'infusione continua). I sintomi più comuni della malattia da siero sono



UOC Ematologia

UOC CTMO

Direttore: Dr Bruno Martino

Direttore: Dr Massimo Martino

artralgie, mialgie, rash, febbre, ipertransaminasemia, proteinuria e piastrinopenia da consumo. L'ipertransaminasemia tende a normalizzarsi in alcuni giorni e un aumento lieve-moderato delle transaminasi non è una controindicazione all'infusione di ATG. In caso di grave tossicità secondaria a somministrazione di ATG non vi è indicazione al passaggio da una formulazione ad un'altra (da ATG di cavallo ad ATG di coniglio e viceversa).

Immunodepressione e riattivazione virale

- La riattivazione dei virus EBV e CMV, senza sviluppo di malattia, è frequente dopo ATG. Necessaria la pratica di non monitorare la riattivazione virale nei pazienti con AA trattati con la sola ATG, mentre tale monitoraggio è raccomandato nel caso si aggiungano altri agenti immunosoppressivi.

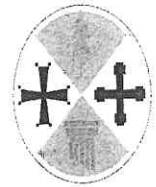
Ciclosporina

- La CsA inibisce l'immunità cellulo-mediata, la produzione T-dipendente di anticorpi e la produzione ed il rilascio di linfocine (IL-2, TCGF). Dati sperimentali mostrano che la CsA blocca i linfociti quiescenti in fase G0 all'inizio della fase G1 del ciclo cellulare. Agisce sui linfociti in modo specifico e reversibile, non deprime l'emopoiesi e non altera la funzione dei fagociti. La CsA è utilizzata nel trattamento delle SAA e delle NSAA trasfusione-dipendenti in associazione con ATG; la terapia di combinazione, come già detto, si è dimostrata più efficace rispetto al trattamento con la sola CsA. Nei pazienti con NSAA trasfusione-indipendenti la CsA trova impiego sia in monoterapia sia in associazione con gli androgeni. Infine, nei paesi in via di sviluppo, l'uso di CsA in monoterapia è a volte una scelta obbligata per il trattamento dei pazienti con AA.
- Ad oggi non è noto quale sia la dose ottimale di CsA nel trattamento delle AA; nella maggior parte degli studi ed in tutti i protocolli europei viene utilizzata, sia negli adulti sia nei pazienti pediatrici, la dose di 5-7 mg/kg/die suddivisa in due somministrazioni mentre negli USA si somministra una dose nettamente superiore, pari a 15 mg/kg/die. Non esistono dati certi neppure sui livelli ematici da raggiungere. Il target di livello ematico misurato prima della somministrazione della CsA ("trough level") è di 150-250 ng/ml nei protocolli europei e di 200-400 ng/ml in quelli statunitensi. Anche nei protocolli pediatrici giapponesi si utilizza la dose di 5 mg/kg e un target di livello ematico pre-dose di 100-250 ng/ml. Mutuando l'esperienza dal trapianto di rene, un indice più attendibile dei livelli ematici terapeutici potrebbe essere quello a due ore dall'assunzione della CsA poiché il picco massimo di concentrazione plasmatica si osserva tra la prima e la terza ora dopo l'assunzione orale (800 ng/ml dopo 180 mg in adulti). **Si raccomanda di mantenere i livelli basali tra 100-250 ng/ml e di utilizzare il dosaggio a due ore nei pazienti con livelli sub-ottimali ai fini di documentare**

l'assorbimento e la reale concentrazione del farmaco durante la fase di picco. La CsA viene somministrata per os dal primo giorno di ATG alla dose di 5 mg/kg/die; aggiustamenti successivi della posologia andranno effettuati al fine di mantenere i livelli ematici pre-dose nel range 100-250 ng/ml. Nel trattamento immunosoppressivo la dose raccomandata di CsA per os è 5 mg/Kg/die, mantenendo i livelli ematici basali tra 100 e 250 ng/ml.

- Si raccomanda di continuare la ciclosporina a dose terapeutica per almeno 12 mesi dopo la risposta massima, con successivo graduale e lento tapering (5-10% della dose ogni mese) sino alla sospensione non prima di 24 mesi dopo la massima risposta.
- *Nefrotossicità*: l'insufficienza renale è dose-correlata e spesso associata ad ipertensione. La CsA determina una riduzione reversibile del flusso ematico renale e della filtrazione glomerulare e pertanto la sua nefrotossicità è ascrivibile alla vasocostrizione delle arteriole afferenti. Una nefrotossicità lieve-moderata risponde in genere alla riduzione della dose. Dosi cumulative elevate o elevati livelli ematici basali possono associarsi allo sviluppo di fibrosi interstiziale e quindi determinare una nefrotossicità cronica progressiva non reversibile. La funzionalità renale deve essere sempre monitorata durante il trattamento, ma altre potenziali cause di nefrotossicità (ad esempio altri farmaci quali i FANS) vanno escluse prima di modificare le dosi della CsA
- *Neurotossicità*: effetti collaterali di tipo neurologico possono verificarsi in oltre il 40% dei pazienti trattati con CsA. La Sindrome da Encefalopatia Posteriore Reversibile (PRES) rappresenta la complicanza neurologica più grave, caratterizzata da cefalea, alterazione dello stato mentale, convulsioni, cecità corticale, altri disturbi del visus ed ipertensione arteriosa. Lo studio neuroradiologico mostra caratteristiche alterazioni di segnale a carico della sostanza bianca, generalmente ma non sempre nella regione posteriore dell'encefalo. Altri effetti neurotossici della CsA includono cefalea, tremori, encefalopatia diffusa, sindrome cerebellare, sindrome extrapiramidale, sofferenza piramidale, neuropatia periferica, crisi convulsive, stato psicotico. L'utilizzo di steroidi ad alte dosi, l'ipertensione arteriosa, l'ipomagnesemia, l'ipertrigliceridemia e la presenza di un danno endoteliale con aumento della permeabilità della barriera emato-encefalica potrebbero favorire lo sviluppo di neurotossicità da CsA. Una correlazione tra l'evento avverso e livelli basali di CsA elevati o sospetti per tossicità si riscontra solo nel 60% dei casi; in genere la sospensione temporanea e la riduzione della dose sono sufficienti alla risoluzione del quadro neurologico.
- *Alterazioni dermatologiche*: includono ipertricosi, acne, prurito, follicolite, cisti epidermiche e neoplasie cutanee. Sono stati riportati rari casi di follicolodistrofia, pseudoporfiria ed eritrodermia.
- *Epatotossicità*: le complicanze epatiche sono comuni (50% dei pazienti) ma generalmente lievi e autolimitanti: aumento di bilirubina, transaminasi e fosfatasi alcalina, talvolta ittero colestatico. Sono stati segnalati casi di epatite ed insufficienza epatica grave.





UOC Ematologia

UOC CTMO

Direttore: Dr Bruno Martino

Direttore: Dr Massimo Martino

- *Effetti collaterali gastrointestinali:* iperplasia gengivale, diarrea, nausea, vomito, anoressia e dolore addominale; raramente pancreatite. L'incidenza di iperplasia gengivale è minore con la formulazione microemulsione e risponde talvolta a terapia con metronidazolo.

- *Effetti cardiovascolari:* le problematiche a carico dell'apparato cardiovascolare sono, per lo più, secondarie ad ipertensione arteriosa indotta da CsA. Inoltre, è stata documentata, in corso di terapia con CsA, una ridotta produzione di ossido nitrico basale e sotto stimolo alla quale consegue disfunzione endoteliale ed aumentato rischio di aterosclerosi prematura.
- *Alterazioni endocrino-metaboliche:* ipertrigliceridemia, iperprolattinemia, riduzione di testosterone, ginecomastia, iperglicemia ed ipertricosi.
- *Disturbi oculari:* sono stati riportati pseudotumor cerebri, edema del disco ottico e cecità tossica retinica (un solo caso).
- *Neoplasie:* lo sviluppo di neoplasie, in particolare tumori cutanei e linfomi, è più frequente nei pazienti immunodepressi e il ruolo reale della CsA resta speculativo. In un ampio studio è stata riscontrata una aumentata incidenza di linfomi e sarcomi di Kaposi nei pazienti trattati con CsA rispetto a quelli trattati con azatioprina e prednisone.
- *Alterazioni immunologiche:* la CsA determina aumentata suscettibilità alle infezioni opportunistiche. Sono riportati casi di infezioni ingravescenti epatiche da virus B e C, polmoniti da Pneumocystis e altre infezioni virali, batteriche e fungine. Uno studio in vitro ha dimostrato l'aumento della produzione intracellulare di CMV e della sua replicazione, evidenziando pertanto un rischio aumentato di infezione da CMV nei pazienti trattati con CsA.

Durante il trattamento con CsA devono essere monitorate regolarmente la pressione arteriosa, la funzionalità renale ed epatica.

Steroidi

- Metilprednisone/prednisone (MPD/PDN) sono utilizzati esclusivamente quali farmaci di supporto nella prevenzione e nel trattamento delle manifestazioni allergiche acute e della malattia da siero. In tutte



le forme di AA sono sconsigliati sia l'impiego dello steroide in prima istanza ed in monoterapia sia l'uso prolungato oltre i primi trenta giorni dalla diagnosi.

Fattore Di Crescita Granulocitario

- L'impiego del G-CSF, dopo trattamento con ATG e CsA, ha trovato una sua giustificazione sia nel tentativo di ridurre il rischio infettivo nei tre mesi che solitamente intercorrono tra IST e risposta ematologica sia nell'ipotesi di migliorare la risposta ematologica sfruttando la stimolazione delle CSE indotta dalla combinazione del G-CSF con fattori di crescita emopoietici endogeni. Visto l'alto rischio di infezioni, di considerare l'uso del G-CSF quando si utilizzi ATG di coniglio nella terapia di prima linea

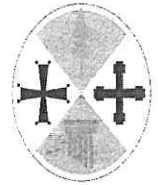
Terapie Alternative Immunosoppressive e non

- La terapia immunosoppressiva combinata standard (ATG/CsA) è gravata da effetti collaterali a breve e lungo termine e da un significativo rischio di refrattarietà, recidiva ed evoluzione clonale. Per i pazienti refrattari al trattamento o in recidiva, non candidabili ad un trapianto di cellule staminali, restano poche opzioni terapeutiche; questo ha portato alla sperimentazione di numerosi regimi immunosoppressivi alternativi. Due sono le strade percorse dai diversi gruppi di studio:
 - intensificazione del regime standard ATG/CsA con l'aggiunta di un terzo agente immunosoppressore, possibilmente con un diverso meccanismo d'azione per sfruttare la sinergia tra farmaci;
 - impiego di agenti con spiccata attività immunosoppressiva, possibilmente con un miglior profilo di tossicità.

Eltrombopag

- Eltrombopag è indicato in pazienti adulti affetti da anemia aplastica acquisita grave (SAA), refrattari a precedente terapia immunosoppressiva o fortemente pretrattati e non eleggibili al trapianto di cellule staminali ematopoietiche. E' una molecola sintetica non peptidica, biodisponibile per via orale, appartenente alla classe degli agonisti dei recettori della TPO, il principale regolatore endogeno della produzione piastrinica. Eltrombopag lega selettivamente il dominio trans-membrana del recettore della TPO (c-Mpl) attivando i pathways JAK-STAT (Janus-associated kinase-signal transducers) e MAPK (mitogen-activated protein kinase) con effetto positivo su proliferazione e differenziazione dei megacariociti a partire dai precursori mieloidi. I recettori di TPO sono presenti sulla superficie cellulare delle cellule staminali e dei progenitori emopoietici ed il signaling TPO/c-Mpl, nell'uomo, partecipa ai meccanismi di regolazione delle cellule staminali quiescenti. L'importanza del recettore c-Mpl per la normale emopoiesi è confermata dal fatto che mutazioni bi-alleliche del gene c-Mpl determinano la cAMT, malattia caratterizzata dalla scarsità/assenza di megacariociti nel midollo osseo e da un aumentato rischio di AA. E' stato anche riportato che mutazioni nonsense del gene c-Mpl in omozigosi si associano ad AA familiare. Il farmaco è risultato efficace ad indurre delle risposte non solo piastriniche, ma anche trilineari. E' necessario effettuare





UOC Ematologia

UOC CTMO

Direttore: Dr Bruno Martino

Direttore: Dr Massimo Martino

controlli seriati del midollo osseo poiché sono state descritte progressioni di malattia con acquisizioni di anomalie citogenetiche nel corso del trattamento con eltrombopag.

Alte dosi di Ciclofosfamide

- La ciclofosfamide (CTX) ad alte dosi ha un potere immunosoppressivo elevato e, per tale ragione, è stata utilizzata nel trattamento delle malattie autoimmuni. L'alto rischio infettivo non consente di collocare la CTX ad alte dosi nella terapia di prima linea per i pazienti che non hanno un donatore familiare HLA identico. La CTX è una possibile opzione per coloro che non hanno risposto o hanno avuto una recidiva dopo la IST tradizionale, non dispongano di un donatore e non siano infetti.

Androgeni

- Gli steroidi anabolizzanti, derivati sintetici del testosterone, sono stati ampiamente impiegati nel trattamento dell'AA soprattutto prima che divenissero disponibili ATG e ciclosporina.
- L'Ossimetolone è un agente stimolante l'eritropoiesi, in grado di determinare anche risposte ematologiche trilineari. E' indicato nel trattamento dei pazienti affetti da sindrome da insufficienza midollare congenita non candidabili a trapianto di midollo osseo. L'uso di Ossimetolone, soprattutto in età pediatrica, è gravato da importanti effetti collaterali quali virilizzazione, prematura chiusura dell'epifisi, ittero, sviluppo di adenomi epatici, aumento delle transaminasi, cambiamenti del comportamento. È richiesto un regolare monitoraggio ecografico e laboratoristico della funzionalità epatica durante il trattamento.
- Il Danazolo è un androgeno non virilizzante con proprietà simili a quelle dei corticosteroidi. Inibisce la produzione di interleuchina-1 e TNF-alfa; è stato utilizzato nel trattamento dei pazienti affetti da porpora trombocitopenica immune, anemia emolitica ed aplasia pura della serie rossa. Danazolo deve essere somministrato alla dose di 300 mg/die per 12 settimane.

Rituximab

- E' un anticorpo monoclonale chimerico diretto contro l'antigene CD20, una proteina di membrana espressa sui linfociti B. Il farmaco determina una deplezione del comparto B linfocitario attraverso l'induzione di apoptosi, citotossicità cellulo-mediata e attivazione del complemento. Al momento, il Rituximab potrebbe essere impiegato come terapia pre-emptive nei pazienti pluritrattati candidati ad ATG o ad IST combinata che abbiano sviluppato refrattarietà alla terapia di supporto ed in particolar modo alla trasfusione di piastrine.



Alemtuzumab

- L'Alemtuzumab (Campath 1H) è un anticorpo (IgG1 kappa) monoclonale umanizzato anti CD52 che provoca la morte di tutte le cellule esprimenti la glicoproteina CD52 sia attraverso la citotossicità cellulare anticorpo-dipendente che la lisi cellulare complemento-mediata. Dato che l'antigene CD52 è ampiamente espresso sulla membrana dei linfociti B e T ma non su quella delle cellule staminali emopoietiche e dei progenitori emopoietici committed, l'Alemtuzumab svolge un'importante azione linfolitica determinando una profonda e prolungata deplezione soprattutto dei linfociti CD4+ e CD8+ mentre risparmia il comparto staminale emopoietico. L'impiego di Alemtuzumab nel trattamento dei pazienti con AA trova il proprio razionale nell'estremo potere immuno-ablativo dimostrato in vivo; la deplezione linfocitaria è completa ed il recupero linfoide richiede molti mesi soprattutto per i linfociti CD4+, tanto da rendere l'azione di questo anticorpo monoclonale comparabile a quella di ATG con un profilo di tossicità accettabile. Esiste comunque una certa riserva sull'uso di Alemtuzumab nel setting dei pazienti con insufficienza midollare per il timore di complicanze infettive, inclusa la possibile tossicità midollare secondaria a riattivazione citomegalica, frequente nei pazienti con disordini linfoproliferativi. Attualmente Alemtuzumab è un farmaco utilizzabile in terza linea con un profilo di sicurezza verosimilmente superiore a quello della CTX.

7. Trapianto Di Cellule Staminali Emopoietiche

7.1 Trapianto Allogenico Da Donatore Familiare HLA Identico

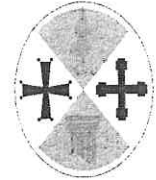
Il trapianto di cellule staminali emopoietiche rappresenta il trattamento di prima scelta nei bambini e negli adulti < 40aa con aplasia midollare grave o molto grave che dispongano di un familiare HLA compatibile, con probabilità di sopravvivenza a lungo termine di circa il 90%.

- **Il regime di condizionamento consigliato, nei pazienti che devono essere sottoposti a trapianto allogenico da familiare HLA compatibile, prevede l'associazione ATG/CTX. La dose di ATG di coniglio consigliata è 2.5 mg/Kg nei giorni -4, -3, -2, associato a ciclofosfamide al dosaggio di 50 mg/Kg nei giorni -5, -4, -3, -2.**
- **Per la prevenzione della GVHD è indicato l'utilizzo di MTX/CsA. Le dosi di MTX più usate sono 8 mg/m² nei giorni +1, +3, +6, +11, oppure 15 mg/m² al giorno +1 seguiti da 10 mg/m² nei giorni +3, +6, +11. La dose di CsA consigliata è 1.5 mg/Kg ogni 12 ore, mantenendo un livello ematico "trough" di 150-250 ng/ml, fino a 9-12 mesi dopo il trapianto; successivamente la dose va ridotta lentamente in almeno 3 mesi ed in assenza di GVHD, eseguendo inoltre un monitoraggio periodico del chimerismo.**

Nella pratica clinica i pazienti possono presentare un peso corporeo "reale" superiore al peso ideale. La necessità della modulazione della dose dei farmaci, nei pazienti sovrappeso è controversa. Tuttavia si consiglia, per la Ciclofosfamide, di calcolare la dose sulla base del peso aggiustato:

- Peso aggiustato : (peso reale - peso ideale) x 0.4 + peso ideale.
- Il peso ideale viene calcolato secondo le equazioni proposte da Devine nel 1974
- Peso ideale (maschio): $45.4 + 0.89 \times (\text{altezza in centimetri} - 152.4) + 4.5$





UOC Ematologia

UOC CTMO

Direttore: Dr Bruno Martino

Direttore: Dr Massimo Martino

- Peso ideale (femmine): $45.4 + 0.89 \times (\text{altezza in centimetri} - 152.4)$

7.2 Trapianto Allogenico Da Donatore Non Familiare

Nei pazienti pediatrici con aplasia midollare grave o molto grave o con aplasia midollare non grave ma trasfusione dipendente, che non dispongano di un donatore familiare compatibile, non rispondenti o recidivati dopo terapia immunosoppressiva, l'impiego del trapianto allogenico da donatore non familiare è entrato nella pratica clinica.

- Il regime di condizionamento consigliato nei pazienti affetti da AA che devono essere sottoposti a trapianto allogenico da MUD prevede l'utilizzo di fludarabina 120 mg/m² in associazione con ciclofosfamida 120 mg/Kg e ATG 7.5 mg/Kg. Nel caso il paziente abbia più di 14 anni o sia politrasfuso (> 20 trasfusioni) o in caso di incompatibilità HLA, va considerata l'aggiunta di una dose di 2 Gy di TBI.
- Per la prevenzione della GVHD è indicato l'utilizzo di MTX/CsA. La dose di CsA consigliata è 1.5 mg/Kg ogni 12 ore (V), mantenendo un livello ematico "trough" di 150-250 ng/ml fino a 9-12 mesi dopo il trapianto ; successivamente la dose va ridotta lentamente in almeno 3 mesi ed in assenza di GVHD, eseguendo inoltre un monitoraggio periodico del chimerismo (EO). Le dosi di MTX più usate sono 10 mg/m² giorno +1, 8 mg/m² giorni +3, +6, oppure 10 mg/m² per ciascuna delle tre dosi.

8. Valutazione Della Risposta Ematologica

Poiché la risposta ematologica alla terapia immunosoppressiva non si manifesta prima di 2 o 3 mesi, la valutazione della risposta al trattamento va effettuata al giorno +120. E' necessario che la stessa venga confermata su due o tre emocromi eseguiti in un periodo di almeno quattro settimane, senza concomitante uso di G-CSF.

Esami per la valutazione della risposta

- **Giorno + 120:**
 - Emocromo con reticolociti,
 - aspirato midollare,
 - BOM,
 - cariotipo,
 - ricerca cloni EPN.

Definizione di Risposta Completa, Risposta Parziale e Non Risposta nei pazienti SAA e VSAA

- Per la definizione di **Risposta Completa** devono essere soddisfatti tutti e tre i seguenti criteri :
 - Neutrofili $\geq 1500/\text{mmc}$
 - Livelli di emoglobina normali per età
 - $\text{PLT} \geq 150.000/\text{mmc}$
- Per la definizione di **Risposta Parziale** è necessaria una condizione di trasfusione-indipendenza (sia dal supporto piastrinico sia dal supporto eritrocitario) in assenza dei criteri ematologici che definiscono la risposta come completa o in assenza dei criteri per la definizione di AAA Severa.
- Per la definizione di **Non Risposta** devono coesistere due dei seguenti criteri :
 - Trasmusione-dipendenza per necessità di supporto eritrocitario
 - Trasmusione-dipendenza per necessità di supporto piastrinico
 - Neutrofili $< 500/\text{mmc}$
- In alternativa viene considerata una Non Risposta la presenza di criteri diagnostici per SAA o VSAA

Definizione di Risposta Completa, Risposta Parziale e Non Risposta nei pazienti NSAA

- Per la definizione di **Risposta Completa** devono essere soddisfatti tutti e tre i seguenti criteri :
 - Neutrofili $\geq 1500/\text{mmc}$
 - Livelli di emoglobina normali per età
 - $\text{PLT} \geq 150.000/\text{mmc}$

Per la definizione di Risposta Parziale è necessaria la presenza di uno dei seguenti criteri :

- Trasmusione-Indipendenza nei soggetti precedentemente trasmusione-dipendenti
- Raddoppio dei valori o normalizzazione dei valori di almeno una linea cellulare
- Neutrofili $> 500/\text{mmc}$ se all'esordio $< 500/\text{mmc}$
- Piastrine $> 20.000/\text{mmc}$ se all'esordio $< 20.000/\text{mmc}$

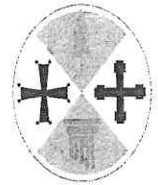
Per la definizione di Non risposta deve verificarsi un peggioramento o l'assenza dei criteri per la risposta completa o parziale.

9. Follow-Up

Sorveglianza Della Risposta, Del Rischio Clonale E Della Tossicità A Lungo Termine

- I pazienti con AA trattati con IST devono essere sottoposti a controlli clinici ed ematologici periodici al fine di monitorare il rischio di evoluzione clonale nonché il manifestarsi di effetti tossici a medio e lungo termine, legati al trattamento. Nella maggior parte dei casi la recidiva ematologica avviene entro 2-4 anni dall'esordio (64, 67, 71). Riguardo all'evoluzione clonale va però ricordato che il rischio di tumore secondario soprattutto nei pazienti trattati con IST, tende ad aumentare negli anni.
- Nei pazienti con AA sottoposti a trapianto di CSE il programma di sorveglianza deve tener conto anche del rischio di rigetto, con o senza ricostituzione autologa, che in questi casi oscilla tra il 15 ed il 30%. Come per tutti i soggetti trapiantati è importante il monitoraggio delle complicanze a medio e





UOC Ematologia

UOC CTMO

Direttore: Dr Bruno Martino

Direttore: Dr Massimo Martino

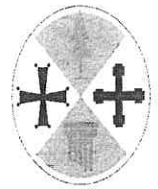
lungo termine legate alla procedura trapiantologica.

10. Recidiva nei pazienti Trattati Con Terapia Immunosoppressiva

- ~~Non vi è consenso sulla definizione di recidiva. Pragmaticamente si può definire recidiva la~~ condizione che si verifica quando, dopo una risposta completa o parziale, sia necessario reintrodurre il trattamento immunosoppressivo a causa di una riduzione dei valori ematologici tale da richiedere, ma non sempre, la ripresa del supporto trasfusionale. Esistono poi diversi fattori che correlano con il rischio di recidiva, tra questi la cellularità periferica ma non quella midollare; pertanto un programma di sorveglianza della risposta ematologica e della recidiva non può prescindere dal controllo periodico dell'emocromo e della conta reticolocitaria. Altri markers biologici o altri indicatori potrebbero emergere dalla valutazione globale della risposta immunitaria e da misurazioni più accurate della riserva e della funzionalità delle cellule staminali
- Esami per la valutazione della recidiva
 - Emocromo con reticolociti,
 - aspirato midollare,
 - BOM,
 - cariotipo,
 - ricerca cloni EPN
- Trattamento della recidiva
 - La recidiva va inizialmente trattata con la reintroduzione della CsA o l'aumento della dose allo scopo di tornare al dosaggio terapeutico (5 mg/Kg/die) per 2-3 mesi; in caso di risposta si prosegue la CsA sino alla stabilizzazione ematologica, con successivo lento e graduale tapering mantenendo la dose minima efficace necessaria per garantire una adeguata crasi ematica.
 - Se non si ottiene risposta con la sola CsA è necessario ripetere un secondo ciclo di terapia immunosoppressiva combinata o procedere a trapianto se vi è disponibilità di donatore HLA compatibile.
 - E' raccomandato di avviare durante il work-up diagnostico la ricerca di un donatore non familiare HLA identico nei registri internazionali, per avere questa opzione disponibile al momento della ricaduta. Se la ricaduta consiste nella ripresa di grave pancitopenia è necessario, qualora sia disponibile un donatore HLA compatibile, procedere a trapianto, oppure ripetere prima possibile il secondo ciclo IST.



- Se la ricaduta si manifesta con un lento decremento dei valori ematologici va inizialmente trattata con la reintroduzione o l'aumento della dose di CsA per os a dosaggio terapeutico (5 mg/Kg/die) per 2-3 mesi; in caso di risposta si prosegue la CsA a dosaggio terapeutico sino alla stabilizzazione ematologica; seguirà un lento e graduale tapering, utilizzando la dose minima efficace al fine di mantenere conteggi ematologici adeguati. In caso di ricaduta caratterizzata dalla comparsa di una grave pancitopenia è necessario avviare il paziente a trapianto di midollo da donatore compatibile non familiare.
 - In caso di ricaduta caratterizzata dalla comparsa di una grave pancitopenia o in caso di mancata risposta alla terapia immunosoppressiva, in assenza di MUD 9/10 o 10/10, è consigliabile procedere con un II IST (non esiste una chiara evidenza se sia più adeguato ripetere ATG di cavallo o eventualmente utilizzare ATG di coniglio)
-
- Evoluzione Clonale
 - MDS/AML, L'evoluzione clonale ematologica è una nota complicanza dopo IST e in corso di terapia con eltrombopag per AA.
 - Si raccomanda nei pazienti con AA responsivi all'IST l'esecuzione di:
 - emocromo ogni mese durante lo scalo della CsA; ogni 1-2 mesi per i primi 6 mesi dopo la fine della ciclosporina; ogni 2-3 mesi per i successivi 2 anni e mezzo (si arriva così, in caso di risposta stabile, a 5 anni dall'inizio ed a tre anni dalla fine dell'IST).
 - Aspirato midollare con citogenetica associato a BOM a +120 giorni.
 - Aspirato midollare con citogenetica a 12 mesi e almeno una volta all'anno per cinque anni dopo aver ottenuto una risposta stabile; dopo i primi cinque anni l'intervallo può essere prolungato se l'emocromo, controllato annualmente, è stabile.
 - EPN
 - Lo sviluppo di EPN dopo trattamento con IST è descritto nel 10-30% circa dei casi. La sintomatologia clinica, nella forma conclamata, è caratterizzata da episodi di emolisi, eventi trombotici a carico soprattutto del circolo venoso profondo (sistema venoso profondo addominale, vene epatiche e seni cerebrali), ripresa della citopenia e rischio di evoluzione leucemica del 3-5%. Nella maggior parte dei pazienti con AA sono presenti cloni EPN minori non associati a sintomatologia clinica.
 - Il trattamento è il trapianto di CSE o la terapia specifica con Eculizumab.
 - Si raccomanda il monitoraggio dei cloni EPN, tramite test citofluorimetrico, e valutazione degli indici di emolisi ogni tre-sei mesi durante IST, ogni anno dopo sospensione della IST
 - Secondi tumori
 - La possibilità di sviluppare un tumore a distanza dal trattamento dell'AA è correlato sia all'uso di farmaci immunosoppressori nei pazienti trattati con IST che alla terapia di condizionamento o alla TBI, quando usata, in coloro che vengono sottoposti a TCSEA



UOC Ematologia

UOC CTMO

Direttore: Dr Bruno Martino

Direttore: Dr Massimo Martino

- Complicanze da CsA

- Gli effetti avversi cronici più frequenti legati all'uso di CsA (60) sono risultati l'ipertricosi (38%), l'ipertrofia gengivale (15%), l'ipertensione (8,5%) e l'epatotossicità (4,8%). Soltanto nel 4,8% dei casi si è osservato
- un incremento significativo dei livelli di creatinina e in altrettanti casi è stato necessario sospendere il farmaco per gli effetti avversi. L'ipertensione è perdurata, nonostante la sospensione del farmaco, nel 15% dei pazienti con necessità di trattamento antiipertensivo protratto. E' importante pertanto la sorveglianza del rischio vascolare.

I pazienti con AA trattati con IST devono essere inseriti in un programma di follow-up multidisciplinare che preveda la valutazione ematologica, la sorveglianza oncologica, la prevenzione primaria del rischio vascolare ed il monitoraggio degli effetti tossici a distanza. Tale programma di follow-up e screening dovrà accompagnare il paziente per tutta la vita e pertanto i controlli andranno concordati con il pediatra di libera scelta prima e con i medici di medicina generale poi.



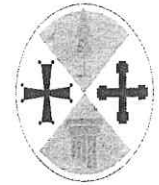
11. Rigetto e recidiva nei pazienti Sottoposti A Trapianto Di Cellule Staminali Emopoietiche

- Il rigetto di trapianto allogenico di CSE non seguito da ricostituzione ematologica autologa è stato osservato nel 32% dei casi di AA trattata con trapianto. La presenza di chimerismo instabile progressivo è stata riscontrata nel 15% di 91 pazienti allotrapiantati, da 2 a 32 mesi dal trapianto e in questo gruppo di pazienti vi era stato rigetto del trapianto nel 50% dei casi. La presenza di chimerismo instabile progressivo (già dopo il primo mese dal trapianto) è stato correlato ad un rischio di rigetto del 50% e la somministrazione di linfociti da donatore ha arrestato il processo e possibilmente prevenuto il rigetto in due successivi pazienti in cui l'evento era stato riscontrato. **Si raccomanda il monitoraggio del chimerismo, dopo TCSA in pazienti con AA, una volta al mese durante il primo anno dal trapianto; ogni tre mesi nel secondo anno; ogni dodici mesi dal terzo anno in poi.**
- Secondi tumori : il rischio di neoplasia (incidenza cumulativa a 15 anni del 10.9%) è stato associato a età maggiore ed uso di CsA nella IST prima del trapianto. La maggior parte dei secondi tumori è risultata costituita da carcinomi squamocellulari, correlabili alla presenza di GVHD cronica, presente nel 70% dei casi, ma non alla TBI.

12. Terapia Di Supporto

Trasfusione Di Emocomponenti

- Indicazioni alla trasfusione di concentrati eritrocitari. L'indicazione alla trasfusione di concentrati eritrocitari viene posta dal medico curante secondo le condizioni del singolo paziente e le diverse variabili che solitamente vengono considerate (comorbidità, fase di aplasia, previsione di evoluzione clinica, etc.). I criteri per la trasfusione di emazie sono rappresentati da:
 - Anemia con Hb < 8 g/dl nel paziente asintomatico
 - Anemia sintomatica (senza soglia)
- Indicazioni alla trasfusione di concentrato piastrinico
 - L'indicazione alla trasfusione di concentrato piastrinico viene posta dal medico curante secondo le condizioni del singolo paziente e le diverse variabili che solitamente vengono considerate (comorbidità, fase di aplasia, previsione di evoluzione clinica, etc.). I criteri per la trasfusione di piastrine sono i seguenti :
 - PLT < 10.000/mmc
 - PLT < 20.000/mmc nel paziente febbrile/settico
 - Manifestazioni emorragiche (a giudizio del clinico)
- Fonte del concentrato piastrinico
 - Il concentrato piastrinico da unico donatore ottenuto mediante piastrino-afèresi è da preferire ai concentrati random ottenuti dal buffy-coat, allo scopo di ottenere una "resa" trasfusionale migliore limitando al minimo l'esposizione ai donatori.
 - E' preferibile che il concentrato piastrinico sia AB0 compatibile per prevenire l'emolisi, aumentare la resa e diminuire l'incidenza di refrattarietà.



UOC Ematologia

UOC CTMO

Direttore: Dr Bruno Martino

Direttore: Dr Massimo Martino

- I pazienti che divengono refrattari alla somministrazione di concentrato piastrinico dovrebbero essere sottoposti alla ricerca di anticorpi anti-HLA, e, se positivi, sottoposti a successive trasfusioni con concentrati piastrinici HLA-compatibili.

• **Indicazioni alla trasfusione di concentrato granulocitario**

- Nonostante la possibile disponibilità di questo emoderivato, il suo uso è molto limitato, soprattutto a causa dei gravi effetti avversi: alloimmunizzazione e TRALI (transfusion-related acute lung injury).
-
- L'uso del concentrato granulocitario va limitato ai casi di infezione in neutropenia che mettano a rischio la vita del paziente, situazione in cui i potenziali benefici bilanciano i rischi, e come trattamento "ponte" in prossimità della ripresa dei GB.
- **Raccomandazioni per l'uso degli emoderivati da familiari**
 - L'uso di emoderivati prelevati da familiari è controindicato per evitare la possibile sensibilizzazione del paziente verso antigeni HLA minori o leucocitari del donatore.
- **Leucodeplezione**
 - I concentrati eritrocitari e piastrinici devono essere leucodepleti
 - Irradiazione : tutti i pazienti con AA devono ricevere emoderivati irradiati con 25 Gy

Prevenzione della trasmissione dell'infezione da CMV

- Tutti gli emoderivati destinati a pazienti CMV-negativi candidati a TCSA dovrebbero essere CMV-negativi.
- In assenza di disponibilità di emoderivati CMV-negativi, una valida alternativa è costituita da emocomponenti in cui la leucodeplezione venga eseguita con filtri prestorage

Terapia Ferrochelante

- Sebbene ci siano scarse evidenze in merito, nei pazienti con livelli di ferritina superiori a 1000 ng/ml esiste l'indicazione ad avviare il trattamento ferrochelante.
- Il deferasirox alla dose di 20-30 mg/Kg/die è da considerarsi il ferrochelante di prima scelta.
- il deferiprone non è suggerito nei pazienti con AA per il noto rischio di agranulocitosi e la deferoxamina pone problemi per la scarsa compliance (infusione s.c. o e.v.) e per il rischio di infezione da Yersinia.
- Dato che la riduzione del carico marziale non avviene rapidamente, è necessario iniziare la ferrochelazione almeno 2-3 mesi prima del trapianto
- Poiché il deferasirox può provocare tossicità renale, nei pazienti che ricevono l'associazione CsA-

deferasirox, in caso di rialzo della creatinina, è necessario ridurre dapprima il dosaggio del deferasirox e verificare se la creatinina sierica si normalizza, piuttosto che ridurre la dose di CsA, possibile causa di recidiva.

- Nei pazienti guariti che presentano sovraccarico marziale, è indicata la salasso-terapia.

Supporto Psicologico

- Si consiglia l'adozione di supporto psicologico come indicato per tutte le patologie oncoematologiche.

Gravidanza

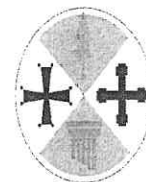
- C'è un alto rischio di recidiva (33%) di AA durante la gravidanza
- Il trattamento della citopenia in gravidanza è principalmente il supporto trasfusionale mantenendo livelli di piastrine $> 20.000/\text{mmc}$; la ciclosporina è da considerare sicura in caso di elevato fabbisogno trasfusionale.
- La terapia ferrochelante non è indicata in gravidanza, e deve essere sospesa al momento del riconoscimento dello stato di gravidanza.
- La criopreservazione del liquido seminale e degli ovociti deve essere presa in considerazione in pazienti da sottoporre al trapianto di midollo per l'AA.

G-CSF

- E' consigliato l'uso continuativo del G-CSF per i primi 30 giorni nelle forme SAA e VSAA ed è accettato l'uso continuativo anche quotidiano dopo i primi 30 giorni e non oltre i 90 giorni nei pazienti con neutrofili $< 200/\text{mmc}$
- E' accettato anche come uso "on demand" dopo i primi 30 giorni in caso di neutropenia febbrile nelle forme SAA e VSAA e solo per il periodo della febbre.

Supporto Anti-Infettivo

- Profilassi antimicrobica : possono essere utilizzate sia una strategia di profilassi, sia una strategia di osservazione e trattamento degli episodi infettivi. La mortalità infettiva è più elevata nei primi 30-90 giorni dalla diagnosi e le infezioni si concentrano nei pazienti con PMN $< 200/\text{mmc}$.
 - Può essere presa in considerazione la profilassi antibiotica solo nei pazienti con PMN $< 200/\text{mmc}$ nei primi 30-90 giorni dopo il siero antilinfocitario.
 - La profilassi antifungina può essere presa in considerazione nei pazienti con valori di PMN persistentemente $< 200/\text{mmc}$.
 - E' indicata la profilassi contro *Pneumocystis Jirovecii* con cotrimoxazolo per os o pentamidina per aerosol in presenza di valori di CD4+ $< 400/\text{mmc}$ o di linfociti $< 1000/\text{mmc}$.
 - La profilassi antivirale può essere presa in considerazione in pazienti con grave linfocitopenia dopo siero antilinfocitario.



UOC Ematologia

UOC CTMO

Direttore: Dr Bruno Martino

Direttore: Dr Massimo Martino

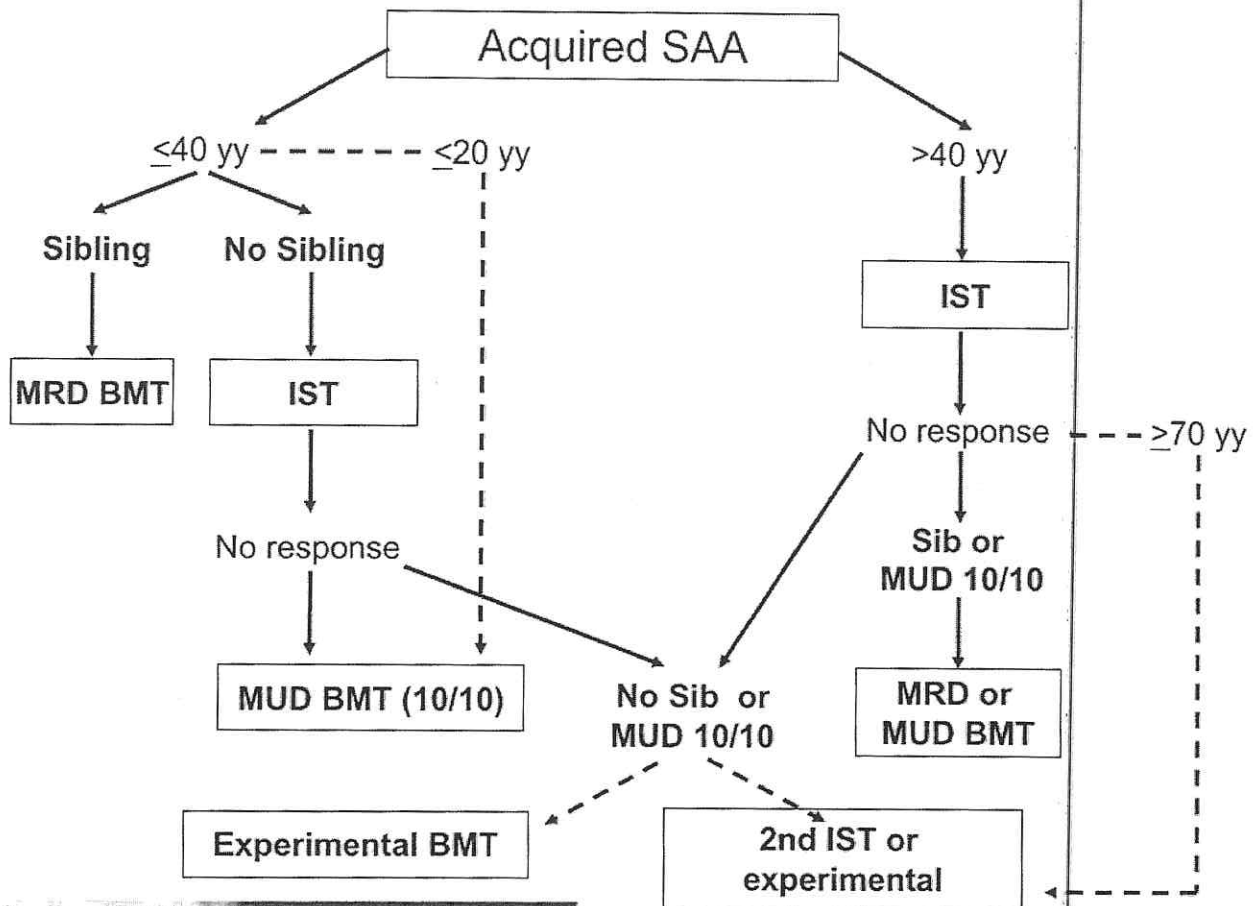
Trattamento empirico delle infezioni batteriche e fungine

- In assenza di evidenze derivanti da studi clinici controllati e metanalisi di studi condotti su popolazioni di bambini febbrili con AA, è ragionevole considerare, le raccomandazioni indicate dalle linee guida per il management della neutropenia febbrile in pazienti con tumore e/o sottoposti a trapianto di cellule staminali ematopoietiche e/o le indicazioni proposte per la terapia empirica in soggetti adulti con AA.
- La terapia antibiotica empirica iniziale di un paziente pediatrico con AA e febbrile deve essere ad ampio spettro e basata sui dati epidemiologici del singolo centro.
- Le modifiche della terapia empirica iniziale non dovrebbero essere effettuate prima di 72-96 ore di trattamento a meno che i dati microbiologici e clinici non lo giustifichino.
- Si raccomanda l'introduzione di un antifungino attivo sull'Aspergillo in terapia empirica se la febbre persiste oltre 96 ore e/o in caso di segni clinici, laboratoristici e strumentali suggestivi.

Vaccinazioni

- Non esistono studi specifici in letteratura; vi sono solo alcune segnalazioni aneddotiche di AA esordita e/o recidivata dopo vaccinazione.
- Nei pazienti ancora in trattamento con ciclosporina non è raccomandata la somministrazione di alcun vaccino.
- Nei pazienti guariti e in off-therapy dopo IST le vaccinazioni contro i virus non sono consigliate





Schema di trattamento

TERAPIA IMMUNOSOPPRESSIVA DI PRIMA LINEA

- **ATG di cavallo*** (ATGAM): 40 mg/Kg/die e.v. (tramite CVC) in 500 ml di NaCl 0.9% in 12 h per 4gg
- **MPD**: 2 mg/Kg/die e.v. 30' prima del siero antilinfocitario per i primi 5 giorni, indi progressiva riduzione sino a sospensione al giorno +28
- **CsA**: 5 mg/Kg/die per os in due somministrazioni per almeno 12 mesi dal conseguimento di una risposta completa. Il trattamento va avviato in concomitanza o al termine della somministrazione di ATG. Aggiustamenti della dose giornaliera possono essere necessari al fine di mantenere i livelli ematici pre-dose fra 100-250 ng/ml. Ridurre la dose del 25-50% in presenza di effetti collaterali (ipertensione, aumento della creatinina sierica). Un tapering lento e graduale (0.25-0.5 mg/kg per mese pari al 5-10% della dose) va avviato dopo 12 mesi dalla risposta ematologica completa sino ad arrivare alla sospensione in non meno di 24 mesi.
- **G-CSF**: 5 µg/kg s.c. o ev, giorni 1-30. Modulazione della dose : dimezzare la dose se neutrofili ≥ 5000/mmc, dimezzare ulteriormente o somministrare a giorni alterni se dopo una settimana persiste una conta di neutrofili ≥ 5.000/mmc.

AD

*Qualora l'ATG di cavallo non fosse disponibile e fosse necessario utilizzare (con le limitazioni di cui sopra) l'**ATG di coniglio** (Thymoglobuline), la dose è la seguente : 3,5 mg/Kg/die e.v. (tramite CVC) in NaCl al 0.9% in 12 ore per 5 giorni.

TERAPIA IMMUNOSOPPRESSIVA DI SECONDA LINEA

- **ATG di coniglio (Thymoglobuline):**3,5 mg/Kg/die e.v. (tramite CVC) in NaCl al 0.9% in 12 ore per 5 giorni.
- **MPD:**2 mg/Kg/die e.v. 30' prima del siero antilinfocitario per i primi 5 giorni, indi progressiva riduzione sino a sospensione al giorno +28.
- **CsA:**5 mg/Kg/die per os in due somministrazioni per almeno 12 mesi dal conseguimento di una risposta completa. Il trattamento va avviato in concomitanza o al termine della somministrazione di ATG. Aggiustamenti della dose giornaliera possono essere necessari al fine di mantenere i livelli ematici pre-dose fra 100-250 ng/ml. Ridurre la dose del 25-50% in presenza di effetti collaterali (ipertensione, aumento della creatinina sierica etc.). Un tapering lento e graduale (0.25-0.5 mg/kg per mese pari al 5-10% della dose) va avviato dopo 12 mesi dalla risposta ematologica completa sino ad arrivare alla sospensione in non meno di 24 mesi.



Sintesi dei controlli in corso di IST

- 1. Emocromo con formula e conta reticolocitaria** mensilmente durante lo scalo della CsA. Ogni 1-2 mesi per i primi 6 mesi dopo la fine della ciclosporina. Ogni 2-3 mesi per i successivi 2 anni e mezzo (si arriva così, in caso di risposta stabile, a 5 anni dall'inizio ed a tre anni dalla fine dell'IST). Se la risposta si mantiene stabile, ogni 3-6 mesi per i successivi 2 anni (si arriva così a 5 anni dalla fine dell'IST). Raggiunti i 5 anni di follow-up dalla fine dell'IST, una volta all'anno.
- 2. Aspirato midollare con citogenetica associato a BOM** a +120 giorni, aspirato midollare a 12 mesi e almeno una volta all'anno per cinque anni dopo aver ottenuto una risposta stabile; dopo i primi cinque anni l'intervallo può essere prolungato se l'emocromo, controllato annualmente, è stabile.
- 3. Monitoraggio dei cloni EPN**, tramite test citofluorimetrico, e valutazione degli indici di emolisi ogni tre-sei mesi durante IST, ogni anno dopo sospensione della IST.
- 4. Ciclosporinemia** basale o dopo due ore dall'assunzione: periodicamente, con controlli più frequenti soprattutto durante la somministrazione a dose piena (> 2 mg/kg/die).
- 5. Glicemia, test di funzionalità renale ed epatica, controllo della pressione arteriosa** ad ogni controllo dopo terapia con ATG, mensilmente allo scalo della ciclosporina ed al bisogno.
- 6. EBV-PCR, CMV-PCR** ogni mese per sei mesi dopo la somministrazione di ATG indi al bisogno.
- 7. Virus trasmissibili (HIV, HBV, HCV)** periodicamente nei pazienti trasfusione-dipendenti.
- 8. Protidogramma, dosaggio immunoglobuline sieriche, sottopopolazioni linfocitarie** ogni sei mesi ed al bisogno.



BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

- 1) Young NS, Maciejewski JP. The pathophysiology of Acquired Aplastic Anemia. *New Engl J Med*, 336,1365-1372,1997
- 2) Young NS. Hematopoietic cell destruction by immune mechanism in acquired aplastic anemia. *Seminars in Hematology*, 37-3-14,2000
- 3) Selleri C. et al. IFN-gamma constitutively expressed in the stromal microenvironment of human marrow cultures mediates potent haemopoietic inhibition. *Blood* 87,4149-4157,1996.
- 4) Dufour C. et al.: TNF-alfa and IFN-gamma are overexpressed in marrow lymphocyte of Pediatric patients with Aplastic anemia *British J Haematol* , 2001, 115,1023-31
- 5) Uta Dirksen et al: "Glutathione S Transferase Theta 1 Gene(GSTT1) null genotype is associated with an increased risk for acquired aplastic anemia in children".*Pediatric research* v.55, n3, 2004, 466-471.
- 6) Nathan and Oski's : *Hematology of Infancy and Childhood* 6th Edition 2003
- 7) Dufour C. *Quaderni di pediatria*; 2:40-49, 2002
- 8) Locasciulli A, van't Veer L, Bacigalupo A, Hows J, Van Lint MT, Gluckman E, Nissen C, McCann S, Vossen J, Schrezenmeier A, et al.
Treatment with marrow transplantation or immunosuppression of childhood acquired severe aplastic anemia: a report from the EBMT SAA Working Party. *Bone Marrow Transplant*. 1990 Sep;6 (3):211-7.
- 9) Tichelli A. et al: " A randomized controlled study in newly diagnosed severe aplastic anemia patients receiving antithymocyte globulin(ATG), cyclosporin A, with or without G-CSF ". A study from the European Group for Blood and Marrow transplantation (EBMT), severe aplastic anemia working party. January 2002
- 10) Locasciulli A, Bruno B, Rambaldi A, Saracco P, Dufour C, Finelli C, Sica S, Varotto S, Arcese W, Locatelli F, Soligo D, Bacigalupo A; Treatment of severe aplastic anemia with antilymphocyte globulin, cyclosporine and two different granulocyte colony-stimulating factor regimens: a GITMO prospective randomized study. *Haematologica*. 2004 Sep;89(9):1054
- 12) D'Andrea AD, Dahl N, Guinan EC, Shimamura A. Marrow failure. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)*. 2002;:58-72. Review.
- 14) EBMT Registry , SAA Working Party 2003.
- 15) Dufour C, Dallorso S, Casarino L, Corcione A, Pistoia V, Bacigalupo A, Morreale G, Dini G.
Late graft failure 8 years after first bone marrow transplantation for severe acquired aplastic anemia.*Bone Marrow Transplant*. 1999 Apr;23(7):743-5.
- 16) Kojima S, Horibe K, Inaba J, Yoshimi A, Takahashi Y, Kudo K, Kato K, Matsuyama T. Long-term outcome of acquired aplastic anaemia in children: comparison between immunosuppressive therapy and bone marrow transplantation. *Br J Haematol*. 2000 Oct;111(1):321-8.

- 17) Fuhrer M, Rampf U, Baumann I, Faldum A, Niemeyer C, Janka-Schaub G, Friedrich W, Ebell W, Borkhardt A, Bender-Goetze C. Immunosuppressive therapy for aplastic anemia in children: a more severe disease predicts better survival. *Blood*. 2005 Sep 15;106(6):2102-4.
- 18) Marsh JC. Management of acquired aplastic anaemia. *Blood Rev*. 2005 May;19(3):143-51. Review.
- 19) Locasciulli A, Oneto R, Bacigalupo A, Socie G, Korthof E, Bekassy A, Schrezenmeier H, Passweg J, Fuhrer M; Severe Aplastic Anemia Working Party of the European Blood and Marrow Transplant Group. Outcome of patients with acquired aplastic anemia given first line bone marrow transplantation or immunosuppressive treatment in the last decade: a report from the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Haematologica*. 2007 Jan;92(1):11-8.
- 20) Socie G, Mary JY, Schrezenmeier H, Marsh J, Bacigalupo A, Locasciulli A, Fuehrer M, Bekassy A, Tichelli A, Passweg J. Granulocyte-stimulating factor and severe aplastic anemia A survey by the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Blood*. 2006

