

Diagnostiek en behandeling verworven aplastische anemie bij volwassenen

Richtlijn voor de diagnostiek, behandeling en follow-up van verworven aplastische anemie bij volwassenen

Initiatiefnemer: *NVvH Werkgroep verworven aplastische anemie*

Autorisatie: *Nederlandse Vereniging voor Hematologie*

Samenstelling richtlijnwerkgroep:

Voor het ontwikkelen van de richtlijn is op 20 januari 2016 een werkgroep ingesteld, bestaande uit vertegenwoordigers van alle relevante specialismen die betrokken zijn bij de zorg voor patiënten met verworven aplastische anemie (zie hiervoor de samenstelling van de werkgroep). De werkgroepleden zijn door hun beroepsvereniging gemandateerd voor deelname. De werkgroep werkte gedurende 2 jaar aan de totstandkoming van de richtlijn. De werkgroep is verantwoordelijk voor de integrale tekst van deze richtlijn en bestaat uit:

Dr. J.M-L Tjon, internist-hematoloog, LUMC

Prof. Dr. S.S. Zeerleder, internist-hematoloog, Amsterdam UMC, locatie AMC

Dr. M.R. de Groot, internist-hematoloog, UMCG

Dr. E. Meijer, internist-hematoloog, Amsterdam UMC, locatie VUmc

Drs. T.J.F. Snijders, internist-hematoloog, MST

Dr. S.M. Langemeijer, internist-hematoloog, Radboud UMC

Prof. Dr. M.H.G. Raaijmakers, internist-hematoloog, Erasmus MC

Dr. R.A.P. Raymakers, internist-hematoloog, UMCU

Dr. C.J.M. Halkes, internist-hematoloog, LUMC

Met ondersteuning van:

Alma Rippen, beleidsmedewerker Nederlandse vereniging voor hematologie

Helma Haggenburg, Stichting AA&PNH contactgroep

Andrea Stiene, Stichting AA&PNH contactgroep

Yvonne ten Buuren, Stichting AA&PNH contactgroep

Ton Appels, Stichting AA&PNH contactgroep

Dr. A.H.G Cleeven, patholoog, LUMC

Dr. K.M. Hebeda, patholoog, Radboud UMC

Inhoud

Algemeen

Overzicht uitgangsvragen

Samenvatting aanbevelingen

Diagnostiek

- Inleiding
- Anamnese
- Lichamelijk onderzoek
- Aanvullend onderzoek
- Ziekteclassificatie

Behandeling

- Ondersteunende behandeling
 - Transfusies
 - Profylactische antibiotica
 - Chelatietherapie
- Ziekte specifieke behandeling eerste lijn
 - Behandel indicatie
 - Allogene stamceltransplantatie
 - Bij welke patiënten is een allogene stamceltransplantatie de aanbevolen eerste lijn behandeling?
 - Conditionering voorafgaand aan allogene stamceltransplantatie bij jonge patiënten met een verwante donor
 - Graft-versus-host disease profylaxe
 - Stamcelbron
 - Immuunsuppressieve therapie
 - Wat is de preferente eerste lijn immuunsuppressieve therapie?
 - Wat te doen met ciclosporine bij patiënten die zes maanden na start van immuunsuppressieve therapie responderen?
 - Is eerste lijn immuunsuppressieve therapie effectief en veilig bij patiënten met verworven aplastische anemie ouder dan 60 jaar?
 - Overige eerste lijn behandeling
 - Androgenen
 - Eltrombopag
 - Specifieke vragen met betrekking tot eerste lijn immuunsuppressieve therapie

- Hoe dient te worden omgegaan met zwangerschapswens en zwangerschap bij vrouwelijke patiënten met verworven aplastische anemie na immuunsuppressieve therapie?
- Hoe is de follow-up van patiënten met verworven aplastische anemie na immuunsuppressieve therapie?
- Hoe om te gaan met de combinatie (zeer) ernstige aplastische anemie en paroxismale nocturnale hemoglobinurie?
- Ziekte specifieke behandeling tweede lijn
 - Wat is een geschikte tweede lijn behandeling in geval van refractaire ziekte na eerdere behandeling met ATGAM in combinatie met ciclosporine?
 - Allogene stamceltransplantatie
 - Conditionering bij jonge patiënten met een onverwante donor
 - Conditionering bij oudere patiënten met een (on)verwante donor

Kwaliteitsindicatoren

- Bij alle patiënten die in het aplastische anemie register worden geregistreerd is onderzoek naar de aanwezigheid van glycoposphatidylinositol-deficiënte cellen gedaan.
- Na eerste lijn behandeling met ATGAM in combinatie met ciclosporine heeft > 50% van de patiënten een respons na zes maanden

Algemeen

Aanleiding

Verworven aplastische anemie is een zeldzaam ziektebeeld dat gekenmerkt wordt door een hypocellulair beenmerg en pancytopenie. Door de lage incidentie van de ziekte (jaarlijks ongeveer 30 nieuwe patiënten in Nederland) is er een beperkt aantal gerandomiseerde studies gedaan naar de optimale behandeling van verworven aplastische anemie. Sinds het verschijnen van de richtlijn diagnostiek en behandeling van verworven aplastische anemie bij volwassenen in 2013 zijn de resultaten van behandeling van de meeste Nederlandse volwassen patiënten met verworven aplastische anemie geregistreerd, zijn er nieuwe richtlijnen verschenen van *the British Society of Hematology (1)* en is er meer bekend over de mogelijke werking van eltrombopag in de behandeling van aplastische anemie. Dit was voor de Nederlandse Vereniging voor Hematologie (NVvH) en de werkgroep verworven aplastische anemie reden om de bestaande richtlijn te reviseren.

Doel en doelgroep

Deze richtlijn heeft als doelstellingen:

- Op optimale wijze uitvoeren van diagnostisch onderzoek bij de verdenking verworven aplastische anemie.
- Optimale behandeling bieden aan patiënten met verworven aplastische anemie.
- Evalueren van de behandelresultaten in Nederland.

De doelgroep betreft alle professionals die betrokken zijn bij diagnostiek, behandeling en begeleiding van volwassen patiënten met verworven aplastische anemie. Voor de diagnostiek en behandeling van aplastische anemie bij kinderen wordt verwezen naar het SKION protocol “acquired aplastic anemia: a best available treatment guideline for Dutch Childhood Oncology Group centers”

Overzicht uitgangsvragen

Vertegenwoordigers van de stichting AA & PNH contactgroep en de leden van de NVvH werkgroep verworven aplastische anemie hebben in de ontwikkeling van deze richtlijn een aantal uitgangsvragen geformuleerd op basis van knelpunten op het gebied van diagnostisch, therapeutisch en follow-up beleid. Onderstaande uitgangsvragen vormen de basis van de verschillende modules in deze richtlijn. Er werd gebruik gemaakt van de “Strength-of-Recommendation Taxonomy” (SORT) gradering om de kwaliteit van het gevonden bewijs per uitgangsvraag te graderen.

- Bij welke patiënten is een allogene stamceltransplantatie de aanbevolen eerste lijn behandeling?
- Wat is de preferente eerste lijn immuunsuppressieve therapie?
- Wat te doen met ciclosporine bij patiënten die zes maanden na start van immuunsuppressieve therapie responderen?
- Is eerste lijn immuunsuppressieve therapie effectief en veilig bij patiënten met verworven aplastische anemie ouder dan 60 jaar?
- Hoe dient te worden omgegaan met zwangerschapswens en zwangerschap bij vrouwelijke patiënten met verworven aplastische anemie na immuunsuppressieve therapie?
- Hoe is de follow-up van patiënten met verworven aplastische anemie na immuunsuppressieve therapie?
- Hoe om te gaan met de combinatie (zeer) ernstige aplastische anemie en paroxysmale nocturnale hemoglobinurie?
- Wat is een geschikte tweede lijn behandeling in geval van refractaire ziekte na eerdere behandeling met ATGAM in combinatie met ciclosporine?

Samenvatting aanbevelingen

- Bij welke patiënten is een allogene stamceltransplantatie de aanbevolen eerste lijn behandeling?
 - *Bij jonge patiënten met een ernstige aplastische anemie en een gematchte sibling donor is een allogene stamceltransplantatie de preferentiële eerste lijn behandeling. Dit geldt voor patiënten tot 40 jaar en kan overwogen worden bij patiënten in een goede conditie tot 50 jaar.*
 - *Bij een jonge patiënt met ernstige aplastische anemie kan, ook in aanwezigheid van een gematchte sibling donor, overwogen worden om te starten met ATGAM behandeling.*
- Wat is de preferente eerste lijn immuunsuppressieve therapie?
 - *Behandeling met ATGAM (Pfizer) in combinatie met ciclosporine vanaf dag 1 is de preferente eerste lijn behandeling voor aplastische anemie bij een volwassen patiënt wanneer deze niet in aanmerking komt voor een allogene stamceltransplantatie.*
- Wat te doen met ciclosporine bij patiënten die zes maanden na start van immuunsuppressieve therapie responderen?
 - *Indien de toxiciteit van de ciclosporine dit toelaat adviseert de werkgroep om de ciclosporine dosering bij een stabiele hematologische respons per twee maanden af te bouwen met 25 mg.*
- Is eerste lijn immuunsuppressieve therapie effectief en veilig bij patiënten met verworven aplastische anemie ouder dan 60 jaar?
 - *Behandeling met ATGAM (Pfizer) in combinatie met ciclosporine vanaf dag 1 is ook voor patiënten met verworven aplastische anemie van 60 jaar of ouder de preferente eerste lijn behandeling.*
- Hoe dient te worden omgegaan met zwangerschapswens en zwangerschap bij vrouwelijke patiënten met verworven aplastische anemie na immuunsuppressieve therapie?
 - *Vrouwen dienen te worden voorgelicht over de kans op een recidief aplastische anemie tijdens de zwangerschap en frequent te worden gecontroleerd in geval van zwangerschap.*
 - *Tijdens de zwangerschap heeft supportieve behandeling middels transfusies de voorkeur. In individuele gevallen kan worden gekozen voor behandeling met ciclosporine tijdens de zwangerschap*

- Hoe is de follow-up van patiënten met verworven aplastische anemie na immuunsuppressieve therapie?
 - *Na behandeling met immuunsuppressieve therapie (ATGAM en ciclosporine) dienen patiënten voor onbepaalde tijd te worden vervolgd vanwege de kans op recidief van de ziekte en het ontwikkelen van secundaire maligniteiten.*
 - *Beenmergonderzoek dient te worden verricht indien er 6 maanden na start van de behandeling geen respons is en indien er sprake is van verlies van respons.*
 - *Screening op de aanwezigheid van een glycoposphatidylinositol (GPI)-deficiënte celkloon dient plaats te vinden zoals aanbevolen onder de uitgangsvraag “Hoe om te gaan met de combinatie aplastische anemie en paroxysmale nocturnale hemoglobinurie”*

- Hoe om te gaan met de combinatie (zeer) ernstige aplastische anemie en paroxysmale nocturnale hemoglobinurie (PNH)?
 - *Bij elke patiënt met aplastische anemie moet onderzoek gedaan worden naar de aanwezigheid van een PNH kloon (voor bepaling PNH kloon: zie richtlijn PNH). Indien geen PNH kloon aanwezig is, dient het onderzoek naar een PNH kloon de eerste 2 jaar elke 6 maanden herhaald te worden. Indien de kloon negatief blijft, daarna jaarlijks. Indien wel een PNH kloon aanwezig is, dient de kloongrootte de eerste 2 jaar in ieder geval elke 3 maanden vervolgd te worden. Daarna, bij gelijkblijvende kloongrootte, elke 6 maanden.*
 - *De aanwezigheid van een kleine PNH kloon zonder tekenen van hemolyse beïnvloedt de keuze voor de behandeling van de aplastische anemie niet. De aanwezigheid van een grote PNH kloon al dan niet met tekenen van hemolyse beïnvloedt de behandeling van de aplastische anemie niet. Echter, naast behandeling van de aplastische anemie moet tevens behandeling gericht op (het voorkomen van complicaties van) de PNH overwogen worden (conform de richtlijn PNH)*

- Wat is een geschikte tweede lijn behandeling in geval van refractaire ziekte na eerdere behandeling met ATGAM in combinatie met ciclosporine?
 - *Bij patiënten met een lage transfusie-frequentie en neutrofiële granulocyten $> 0.5 \times 10^9/l$ of bij patiënten met veel co-morbiditeit kan worden overwogen verder herstel van het bloedbeeld af te wachten onder continueren van de ciclosporine.*
 - *Bij patiënten die 6 maanden na start van de immuunsuppressieve therapie bestaande uit ATGAM en ciclosporine nog altijd aan de criteria voor ernstige aplastische anemie voldoen dient een volgende lijn behandeling sterk te worden overwogen vanwege de aanzienlijke kans op met name infectieuze complicaties. Tweede lijn behandeling kan*

bestaan uit een allogene stamceltransplantatie, een kuur met konijn-ATG (Thymoglobuline) in combinatie met ciclosporine of uit eltrombopag. In individuele gevallen kan danazol of alemtuzumab worden overwogen.

- *Er is geen plaats voor cyclofosfamide in de behandeling van refractaire aplastische anemie.*

Diagnostiek bij verdenking op verworven aplastische anemie

Inleiding

Bij de meerderheid van de patiënten met verworven aplastische anemie kan geen directe oorzaak worden aangetoond voor het beenmergfalen. Immungemedieerde afbraak van hematopoëtische voorlopercellen wordt verondersteld ten grondslag te liggen aan het beenmergfalen. Immuunsuppressieve therapie (IST) leidt tot herstel van de hematopoëse in de meerderheid van de patiënten met aplastische anemie, waarbij een rol voor onder andere oligoklonale CD8 positieve T cellen, CD4 positieve T cellen, afwijkende regulatoire T cellen en gamma delta T cellen gesuggereerd is. De uitlokkende factor voor de afbraak van hematopoëtische voorlopercellen is onbekend.

Bij een klein deel van de patiënten met verworven beenmergfalen zijn verkorte telomeren aantoonbaar, al dan niet in combinatie met mutaties in genen die een rol spelen bij het in stand houden van adequate telomeerlengte en/of een klinisch beeld met kenmerken van dyskeratosis congenita. Ziektebeelden die geassocieerd zijn met korte telomeren zoals idiopathische levercirrose, longfibrose, beenmergfalen, AML en MDS kunnen hierbij familiair voorkomen. Overkoepelend wordt deze entiteit omschreven als telomeerziekte. Patiënten met telomeerziekte hebben vaker een milde pancytopenie en hebben een toegenomen kans op het ontwikkelen van secundaire maligniteiten (2, 3).

Bij een deel van de patiënten met verworven aplastische anemie is sprake van een relatieve toename van klonale cellen die het glycoposphatidylinositol (GPI) anker missen zonder dat er sprake is van de klinische manifestatie van het ziektebeeld paroxysmale nachtelijke hemoglobinurie (PNH) (4, 5).

Het diagnostisch onderzoek bij de verdenking op verworven aplastische anemie is gericht op het uitsluiten van een andere oorzaak van de beenmergaplasie en de bijbehorende cytopenie. Diagnoses die dienen te worden uitgesloten zijn: congenitaal beenmergfalen syndroom (Fanconi anemie, dyskeratosis congenita), hypoplastische MDS, telomeer ziekte, voedingsdeficiënties, anorexia nervosa, T-cell large granular lymphocytic leukemia (T-LGL), hairy cell leukemia, myelofibrose, en hypoplastische AML. Daarnaast wordt diagnostiek verricht naar oorzaken die geassocieerd zijn met het ontstaan van aplastische anemie zoals systemische lupus erythematosus (SLE), virale infecties, hepatitis, eosinofiele fasciitis en expositie aan toxische middelen of specifieke medicatie.

Vanwege de lage incidentie van de ziekte wordt geadviseerd patiënten bij wie de verdenking op verworven aplastische anemie bestaat voor verdere diagnostiek te verwijzen naar een ziekenhuis dat ervaring heeft met de behandeling met

antithymocytenoglobuline (ATG) en/of allogene stamceltransplantatie (Academisch ziekenhuis, Medisch Spectrum Twente, Antonius Ziekenhuis Nieuwegein).

Op basis van internationale richtlijnen en expert opinie van de leden van de werkgroep adviseert de werkgroep onderstaand diagnostisch onderzoek uit te voeren bij verdenking op verworven aplastische anemie.

Anamnese

Algemene anamnese in het kader van de gevolgen van cytopenie:

- Anemie: o.a. vermoeidheid, dyspnoe d'effort, klachten passend bij cardiale ischemie
- Neutropenie: frequentie van doorgemaakte ernstige infecties
- Trombopenie: aanwezigheid van huid- en/of slijmvliesbloedingen
- Transfusie-afhankelijkheid en transfusiefrequentie (indien van toepassing)

(Familie-) anamnese in het kader van een mogelijk congenitale oorzaak:

- Het voorkomen van beenmerg aandoeningen in de familie
- Afwijkingen die familiair kunnen voorkomen in het kader van telomeer ziekte: pancytopenie, longfibrose, cryptogene levercirrose en (hematologische) maligniteiten
- Kenmerken passend bij dyskeratosis congenita: nagelafwijkingen, abnormale huidpigmentatie, leukoplakie, vernauwde traanvochtbuisjes, oesophagus stricturen, vroeg grijs haar, osteoporose, cerebellaire hypoplasie, retinopathie (6).
- Kenmerken passend bij Fanconi anemie: hyperpigmentatie van de huid, café-au lait vlekken, korte gestalte, driehoekig gezicht, dysplastische duim, onderontwikkelde radius, microcefalie, abnormale nieren, verminderde fertiliteit (7). Familiair voorkomen van gynecologische of hoofd/hals maligniteiten op jong volwassen leeftijd, beenmergfalen en/of MDS of familiair voorkomen van ongewone/heftige toxiciteit van chemo- en/of radiotherapie

Anamnese in het kader van specifieke oorzaken van verworven aplastische anemie

- Hepatitis doorgemaakt voorafgaand aan het ontstaan van aplastische anemie (ongeveer 5% van de gevallen van aplastische anemie in West Europa). Virussen die geassocieerd zijn met het ontstaan van aplastische anemie: HAV, HBV, HCV, HDV, HEV, HGV, CMV, EBV, ParvoB19, HHV-6, HIV Transfusion Transmitted virus (TTV) en non-A-E hepatitis (8, 9).
- Eerdere diagnose van met aplastische anemie geassocieerde ziektes: SLE, eosinofiele fasciitis, thymoom.
- Geneesmiddelengebruik: NSAID's (indomethacine, diclofenac), butazonen,

propylthiouracil, hydantoïnen, carbamezapine, chlooramfenicol, goudzouten.

- Expositie aan chemicaliën/ bestrijdingsmiddelen zoals benzeen. Benzeen leidt tot epigenetische veranderingen wat mogelijk kan leiden tot het ontstaan van beenmergfalen (10, 11)
- Voorafgaande behandeling met chemotherapie en/of bestraling

Lichamelijk onderzoek

- Gericht op congenitale afwijkingen passend bij dyskeratosis congenita: nageldystrofie, reticulaire huidpigmentatie, mucosale leukoplakie, grijs haar op jonge leeftijd (6)
- Gericht op congenitale afwijkingen passend bij Fanconi anemie: Hyperpigmentatie van de huid, café-au lait vlekken, korte gestalte, driehoekig gezicht, dysplastische duim, onderontwikkelde radius, microcefalie
NB: Fanconi anemie kan zich op ook volwassen leeftijd manifesteren met weinig of zonder uiterlijke kenmerken (30% van de patiënten) (7)
- Beoordelen van lymfadenopathie en/of hepatosplenomegalie.

Aanvullend onderzoek

Bloedonderzoek

- Volledig bloedbeeld inclusief reticulocyten en microscopische leukocytendifferentiatie
- Haptoglobine/directe antiglobuline test
- Leverchemie en nierfunctie
- Vitamine B12, foliumzuur, ijzerstatus
- Virale diagnostiek: CMV, EBV, HIV, parvovirus B19, HHV-6, HBV en HCV. Indien aanwijzingen voor recent doorgemaakte hepatitis tevens diagnostiek naar HAV, HDV, HEV, HGV
- PNH diagnostiek (zie richtlijn PNH)
- Immunofenotypering van lymfocyten, o.a. ter uitsluiting van T-LGL
- Antinucleaire antistoffen (ANA), anti-dsDNA (SLE-diagnostiek)

Beenmergonderzoek

- Beenmergaspiraats inclusief morfologische beoordeling, Immunofenotypering, cytogenetisch onderzoek en FISH-onderzoek naar MDS-geassocieerde afwijkingen. Echter ook bij verworven aplastische anemie kunnen cytogenetische afwijkingen voorkomen (meest frequent: trisomie 8, deletie 7q en deletie 1q (12)). Het morfologische onderscheid tussen MDS en verworven aplastische anemie kan lastig zijn. Discrete dysplastische afwijkingen in de

erytropoëse komen ook bij verworven aplastische anemie voor. Dysplasie kan derhalve in een hypoplastisch beenmerg het beste in de megakaryocyten beoordeeld worden (13).

- Beenmergbiopsie van voldoende lengte (minimaal 2 cm) inclusief CD34, CD117 en reticulinekleuring

Radiologisch onderzoek

- X-thorax ter uitsluiting van een thymoom.
- Indien er vermoeden is op een lymfoom als oorzaak aplastische anemie, dan is screening met CT hals-thorax-abdomen aan te bevelen (14).

Aanvullend onderzoek onder specifieke omstandigheden

- HLA typering kan nuttig zijn bij het voorspellen van de respons op IST. HLA-DRB1*1501 en 1502 zijn geassocieerd met een goede respons op IST (15, 16). HLA typering is noodzakelijk bij analyse naar onvoldoende opbrengst op trombocytentransfusies en wanneer er een indicatie voor allogene hematopoëtische stamceltransplantatie (alloHSCT) bestaat.
- Fanconi anemie dient in ieder geval te worden uitgesloten bij patiënten < 40 jaar. Er zijn echter ook gevallen van Fanconi anemie bekend met een presentatie >40 jaar. Bij Fanconi anemie ontstaat er meer DNA schade na blootstelling aan DNA-toxische stoffen en cross-linking agentia als gevolg van mutaties in genen die onderdeel zijn van het DNA repair complex (17). Als initiële test dient een mitomycine-C test te worden verricht (Amsterdam UMC, locatie VUmc), indien afwijkend dient deze gevolgd te worden door DNA-diagnostiek (Amsterdam UMC). Zie ook: www.dnadiagnostiek.nl.
- Bij verdenking op telomeerziekte (familieanamnese met idiopathische levercirrose, longfibrose, beenmergfalen, AML of MDS, al dan niet in combinatie met uiterlijke kenmerken) is het raadzaam de mogelijkheid tot genetische counseling in één van de academische ziekenhuizen te bespreken met de patiënt. Onderzoek naar de mutaties in de nu bekende 11 DC genen is in 65% van de patiënten met korte telomeren positief: TERT, TERC, RTEL1, TINF2, TPP1, dyskerin, NOP10, NHP2, USB1, CTC1, TCAB1. Onderzoek naar mutaties in deze genen kan worden verricht in het ErasmusMC of het Radboud UMC. Zie ook: www.dnadiagnostiek.nl. Indien mutatieanalyse negatief is en er toch een hoge verdenking op telomeerziekte bestaat kan worden overwogen onderzoek te laten verrichten naar telomeerlengte (18)

Indien er aanwijzingen zijn voor een congenitaal beenmerg falen wordt aangeraden contact op te nemen met een gespecialiseerd centrum.

Ziekte classificatie

Op basis van de bevindingen bij bloed- en beenmerg-onderzoek kan de ernst van de aplastische anemie geclassificeerd worden (Tabel 1)

Tabel 1. Ziekteclassificatie	
niet-ernstige aplastische anemie	hypocellulair beenmerg met perifere bloedwaarden die onder de normaalwaarden liggen maar die niet voldoen aan de criteria voor ernstige aplastische anemie
ernstige aplastische anemie	<ul style="list-style-type: none"> ○ beenmergcellulariteit < 25% (of 25-50% indien <30% van het beenmerg bestaat uit hematopoëtische cellen) ○ plus ≥ 2 van de volgende 3: <ul style="list-style-type: none"> ▪ neutrofielen < 0.5 x 10⁹/L ▪ trombocyten < 20 x 10⁹/L ▪ reticulocyten < 20 x 10⁹/L
zeer ernstige aplastische anemie	conform ernstige aplastische anemie maar neutrofielen < 0.2 x 10 ⁹ /L

Behandeling van patiënten met verworven aplastische anemie

Ondersteunende behandeling

Transfusies

Met betrekking tot transfusies gelden de adviezen zoals deze geformuleerd staan in de Nederlandse CBO Richtlijn Bloedtransfusie. Daarnaast geldt bij het gebruik van ATG een transfusie grens voor trombocyten van $20 \times 10^9/L$. Dit streefaantal wordt in alle internationale richtlijnen genoemd aangezien ATG een directe daling van het aantal circulerende trombocyten kan geven. Indien er na trombocyten transfusie onvoldoende stijging in het trombocytenaantal optreedt (1-uurs corrected count increment (CCI_1uur) lager dan 7,5), is onderzoek naar antistoffen gericht tegen HLA en eventueel HPA geïndiceerd. Er bestaat een indicatie voor bestraalde bloedproducten, ter preventie van transfusie geassocieerde graft versus host ziekte als er behandeling plaatsvindt met ATG, alemtuzumab of alloHSCT. Zie de CBO richtlijn Bloedtransfusie voor de duur van de indicatie voor bestraalde bloedproducten.

Profylactische antibiotica

Gerichte studies op dit vlak ontbreken en de internationale richtlijnen lopen uiteen in hun adviezen. Gezien het in de regel ontbreken van mucositis lijkt selectieve darmdecontaminatie niet noodzakelijk. Profylaxe ter voorkoming van Pneumocystis jirovecii infectie en valaciclovir ter preventie van herpesinfecties wordt geadviseerd gedurende de lymfopene periode na behandeling met ATG. Indien het CD4 getal na ATG behandeling gestegen is $>200 \times 10^6/L$ kunnen deze profylactische maatregelen worden gestaakt (19). Bij koorts wordt geadviseerd om snel tot gerichte diagnostiek en empirische behandeling over te gaan. Uit retrospectieve studies blijkt dat invasieve fungale infecties, met name aspergillus en candida, de belangrijkste oorzaak zijn van mortaliteit. Het optreden van een invasieve fungale infectie is met name gerelateerd aan de ernst en diepte van de neutropenie en monocytopenie. Daarom adviseren wij conform eerdere richtlijnen om bij patiënten met een zeer ernstige aplastische anemie (Tabel 1) te starten met aspergillus profylaxe en bij patiënten met een ernstige aplastische anemie (Tabel 1) het starten van aspergillus profylaxe te overwegen.

Chelatietherapie

Secundaire ijzerstapeling door multipale bloedtransfusies dient behandeld te worden door middel van chelatietherapie. Daarbij is het serum ferritine de meest gebruikte parameter. De hoogte van het ferritine is echter niet altijd direct gecorreleerd aan de mate van ijzerstapeling. Een MRI van hart en lever kan behulpzaam zijn bij het kwantificeren van ijzerstapeling in deze organen en het vaststellen van beschadiging van deze organen door ijzerstapeling, ofschoon studies bij patiënten met aplastische

anemie ontbreken. Indien patiënten door geslaagde IST of alloHSCT geen anemie meer hebben, heeft flebotomie om het ijzergehalte te reduceren de voorkeur. Indien medicamenteuze chelatietherapie geïndiceerd is, dienen de potentiële bijwerkingen (kans op agranulocytose bij deferipron en nierfunctiestoornis bij deferasirox) van de verschillende middelen en de negatieve gevolgen van secundaire ijzerstapeling tegen elkaar te worden afgewogen. Zie voor de geadviseerde controles bij het gebruik van deze medicatie het farmacotherapeutisch Kompas.

Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)

Patiënten hebben door (soms langdurige) neutropenie een verhoogd risico op infectieuze complicaties. In een gerandomiseerde studie van de EBMT werd onderzocht of het toevoegen van G-CSF aan standaard immuunsuppressieve therapie de neutropene fase kan verkorten en daarmee een gunstig effect op de overleving kan bewerkstelligen (20). In deze studie werden 192 patiënten geanalyseerd waarvan 97 patiënten G-CSF ontvingen van dag 8 tot en met 240 na behandeling met paard-ATG en ciclosporine. Het toevoegen van G-CSF aan standaard IST bekort mogelijk de opnameduur in patiënten met een zeer ernstige aplastische anemie door reductie van infectieuze complicaties. Dit effect is niet duidelijk aantoonbaar voor patiënten met een ernstige aplastische anemie. Toevoegen van G-CSF heeft geen effect op de overall survival, mortaliteit, remissie en relapse (20). De werkgroep adviseert om die reden G-CSF niet te gebruiken als onderdeel van de standaard behandeling van aplastische anemie.

Ziekte specifieke behandeling eerste lijn

Behandel indicatie bij verworven aplastische anemie

(Zeer) ernstige aplastische anemie is een indicatie tot behandeling(1, 21, 22). Bij een niet-ernstige aplastische anemie bestaat een behandelindicatie indien de patiënt transfusie-afhankelijk is. Voor patiënten zonder transfusie-afhankelijkheid wordt geadviseerd een expectatief beleid te voeren. Wanneer een niet-ernstige aplastische anemie op basis van een dalend neutrofielen-aantal evolueert naar een ernstige aplastische anemie, dient de ziekte ook als zodanig behandeld te worden. Potentieel beenmerg-toxische medicatie dient direct gestaakt te worden. Indien het bloedbeeld tijdens de diagnosestelling (ongeveer 2-3 weken) niet spontaan verbetert, dient zo snel mogelijk gestart te worden met de behandeling. Eventueel aanwezige infecties dienen zo goed mogelijk behandeld te worden maar vormen geen reden om de noodzakelijke behandeling lang uit te stellen (1, 21, 22). In verband met de sterk gestoorde immuniteit van patiënten met een (zeer) ernstige aplastische anemie dienen deze patiënten behandeld te worden in centra waar ervaring is met de zorg voor deze patiënten (Academische centra, Medisch Spectrum Twente en Antonius ziekenhuis Nieuwegein).

Allogene hematopoëtische stamceltransplantatie

Uitgangsvraag:

Bij welke patiënten is een allogene stamceltransplantatie de aanbevolen eerste lijn behandeling?

Aanbeveling:

Bij jonge patiënten met een (zeer) ernstige aplastische anemie en een gematchte sibling donor is een alloHSCT de preferentiële eerste lijn behandeling. Dit geldt voor patiënten tot 40 jaar en kan overwogen worden bij patiënten in een goede conditie tot 50 jaar.

Onderbouwing

Inleiding

Indien er een behandel indicatie is, dient een keuze gemaakt te worden tussen IST of alloHSCT. Beide behandelingsmodaliteiten verschillen niet alleen in werkingsmechanisme maar ook in toxiciteit en effectiviteit. IST kent minder vroege bijwerkingen en de bijwerkingen zijn met name medicatie-gerelateerd. IST kan ook toegepast worden bij patiënten op oudere leeftijd of met co-morbiditeit (23). Hier staat tegenover dat na IST de kans op recidief ziekte of clonale evolutie (AML/MDS) groter is. AlloHSCT is geschikt voor jongere patiënten zonder belangrijke co-morbiditeit maar gaat gepaard met een risico op transplantaat falen, graft-versus-host ziekte (GvHD) en transplantatie gerelateerde mortaliteit.

Conclusie	SORT grade
Bij jonge patiënten met een ernstige aplastische anemie en een gematchte sibling donor is een alloHSCT de preferentiële eerste lijn behandeling. Dit geldt voor patiënten tot 40 jaar en kan overwogen worden bij patiënten in een goede conditie tot 50 jaar.	C
Bij een jonge patiënt met ernstige aplastische anemie kan, ook in aanwezigheid van een gematchte sibling donor, overwogen worden om te starten met IST bestaande uit ATGAM in combinatie met ciclosporine.	C

Samenvatting literatuur

Resultaten

Er zijn geen gerandomiseerde studies waarbij IST en alloHSCT direct met elkaar vergeleken worden. Er is in 2013 een Cochrane-review gepubliceerd waarbij een analyse van prospectieve studies werd verricht waarbij het donor versus no donor principe werd gehanteerd in de analyse (24). Uiteindelijk voldeden maar 3 relatief kleine studies aan de criteria waarbij het van belang is te melden dat het oudere studies betrof en een groot aantal van de geïnccludeerde patiënten kinderen waren. De auteurs van de Cochrane-review concluderen dat er onvoldoende bewijs is om op basis van de gepubliceerde onderzoeken aan te geven of IST dan wel alloHSCT de eerste keuze zou moeten zijn bij de behandeling van (zeer) ernstige aplastische anemie.

In een EBMT registry studie van Locasciulli van 2479 patienten met verworven ernstige aplastische anemie was de 10-jaars overleving 73% versus 68% na eerste lijn therapie met een alloHSCT versus IST(25). Bias bij de keuze van de therapie zal een rol hebben gespeeld in het verschil in overleving aangezien de jongere fitte patiënt veelal een alloHSCT ontving. Het risico op overlijden was in het verleden hoger bij een onverwante dan bij een verwante donor, hoewel direct vergelijkende studies ontbreken en Locasciulli et al. laten zien dat de overall survival dichter bij elkaar komt in cohorten die recenter zijn getransplanteerd (38% versus 74% in het cohort 1991-1996 en 65 % versus 80 % in het cohort 1997-2002) (25). In een recentere EBMT registry studie van een cohort bestaande uit 1448 patiënten was het verschil in risico om te overlijden na een alloHSCT van een onverwante donor niet significant hoger dan na een alloHSCT van een verwante donor. Er bestaat nog wel een hoger risico op acute en chronische GvHD in geval van een onverwante donor (26).

Zoekverantwoording

Er werd voor deze uitgangsvraag, vanwege het ontbreken van vergelijkende studies, geen systemisch literatuuronderzoek verricht. Er werd gebruik gemaakt van de recente richtlijn van de British Society of Hematology en van een Cochrane-review.

Overwegingen

Onder optimale omstandigheden leidt alloHSCT tot een uitstekende overleving voor patiënten met (zeer) ernstige aplastische anemie. De lange termijn overleving ligt rond de 90% indien gebruik gemaakt wordt van een verwante donor, beenmerg als stamcel bron, conditionering bestaande uit hoge dosis cyclofosfamide en ATG en GvHD profylaxe bestaande uit ciclosporine en methotrexaat (MTX)(27-29). De resultaten van alloHSCT bij oudere patiënten of patiënten met een onverwante donor zijn slechter. Hier dient rekening mee gehouden te worden bij het stellen van de

indicatie tot alloHSCT in plaats van behandeling met IST. Het verschil in uitkomst na verwante versus onverwante donor alloHSCT is groter dan bij maligne ziektebeelden. Derhalve adviseert de werkgroep alleen jongere patiënten met een HLA-identieke verwante donor in de eerste lijn allogene te transplanteren. Voor jongere patiënten die niet over een verwante donor beschikken en voor oudere patiënten geldt dat alloHSCT pas in de tweede lijn toegepast dient te worden. Hiermee conformeren wij ons aan de internationale richtlijnen zoals die van de EBMT en de British Committee for Standards in Haematology (BCSH) Haemato-Oncology Task Force (1, 30).

Als leeftijdsgrens wordt in de verschillende richtlijnen 40 jaar gebruikt waarbij er ruimte is om bij patiënten tot 50 jaar zonder co-morbiditeit met een verwante donor een alloHSCT te overwegen. Met betrekking tot leeftijd is een exacte grens lastig aan te geven maar de kans op langdurige overleving neemt met elke decade af, tot ongeveer 50% boven de 50 jaar (21). Hoewel alloHSCT ook op hogere leeftijd uitvoerbaar is, weegt in het geval van (zeer) ernstige aplastische anemie de winst van eerste lijn alloHSCT door de toenemende morbiditeit en mortaliteit in deze leeftijdscategorie niet op tegen de resultaten van IST.

Bij individuele patiënten kunnen gefundeerde redenen bestaan om van bovengenoemde richtlijnen af te wijken. Zo kan het voor patiënten met een zeer ernstige aplastische anemie en diepe neutropenie de voorkeur hebben in eerste lijn voor alloHSCT te kiezen, om de duur van neutropenie te beperken. Hierbij kan bijvoorbeeld overwogen worden een hogere leeftijd te accepteren. De aanwezigheid van een monosomie 7 kan, ook zonder dat er aanwijzingen zijn voor een MDS of een AML, een reden zijn om te kiezen voor een alloHSCT. Bij een patiënt met een ernstige aplastische anemie kan er, ook als er een gematchte sibling donor is, in overleg met de patiënt gestart worden met ATGAM als eerste lijn behandeling. De lagere toxiciteit van deze behandeling in vergelijking met een alloHSCT moet dan afgewogen worden tegen de lagere responskans en de langere granulopene periode met verhoogd infectierisico.

Conditionering voor allogene stamceltransplantatie bij jonge patiënten met een verwante donor

Specifieke aandachtspunten hierbij zijn:

- de verhoogde kans op transplantaat falen bij alloHSCT voor (zeer) ernstige aplastische anemie (5-10%) vergeleken met alloHSCT voor maligne aandoeningen wanneer dezelfde conditionering gebruikt wordt.
- het belang van vermijden van GvHD dat immers bij dit benigne ziektebeeld niet functioneel is en de kwaliteit van leven negatief kan beïnvloeden.
- het belang van vermijden van negatieve lange-termijn effecten, met name secundaire maligniteiten. Daarom wordt in de conditionerings-regimes voor (zeer) ernstige aplastische anemie afgezien van hoge dosis totale lichaamsbestraling (TBI).

- Het verdient aanbeveling om jonge patiënten die een alloHSCT zullen ondergaan van te voren te laten counselen met betrekking tot vruchtbaarheid(preservatie)

De conditionerings-regimes die internationaal bij (zeer) ernstige aplastische anemie worden toegepast, zijn ontwikkeld op basis van bovenstaande aandachtspunten. Indien gekozen wordt voor een lokaal protocol dat ook bij maligne indicaties wordt toegepast, dient men zich te realiseren dat dit veelal niet is toegesneden op deze aspecten.

Voor jongere patiënten met een verwante donor wordt conditionering met hoge dosis cyclofosfamide (50 mg/kg dag -5 tot en met -2) in combinatie met ATG (Thymoglobuline) geadviseerd (Tabel 2). Over de dosering Thymoglobuline bestaat geen consensus, zowel 3x 2.5 mg/kg als 3x 3.75 mg/kg wordt gebruikt. Dit schema (Cy/ATG) is zeer immuunsuppressief, ter voorkoming van transplantaat falen en GvHD. Belangrijk is de realisatie dat een gerandomiseerde trial geen expliciet voordeel van de toevoeging van ATG aan cyclofosfamide heeft laten zien. Weliswaar was de overleving in de beide behandelarmen in deze studie beter dan verwacht waardoor de studie onvoldoende power had om een significant verschil aan te tonen (31). Een ander punt van aandacht betreft het soort ATG dat wordt toegepast, in de aangehaalde studies werd doorgaans ATGAM gebruikt. Er zijn aanwijzingen dat het type ATG impact heeft op de uiteindelijke uitkomst na transplantatie (32).

Er bestaat internationaal geen consensus over de vraag tot op welke leeftijd Cy/ATG een geschikt schema is. Ook bij patiënten > 40 jaar wordt dit schema toegepast, mits de patiënt een goede (cardiale) conditie heeft en beenmerg als stamcelbron gebruikt wordt (33). Een standaardschema bij jongere patiënten die een alloHSCT van een onverwante donor krijgen, bestaat evenmin. Een goede optie is het toevoegen van 2 Gy TBI (of 2 x 2 Gy ingeval van een gemismatchte onverwante donor) op dag -1 aan Cy/ATG (34).

cyclofosfamide	50 mg/kg/dag	dag -5 tot en met -2
Thymoglobuline (konijn-ATG)*	2.5-3.75 mg/kg/dag	dag -5 tot en met -3
TBI**	2 Gy	dag -1
stamcelinfusie		dag 0

* over de dosering Thymoglobuline bestaat geen consensus

** alleen bij onverwante donor (bij gemismatchte onverwante donor: 2 x 2Gy)

GvHD-profylaxe

De studies vanuit het Fred Hutchinson Cancer Research Center in Seattle (27-29), waar het regime van cyclofosfamide met ATG is ontwikkeld, zijn allemaal uitgevoerd in combinatie met een medicamenteuze GvHD profylaxe bestaande uit ciclosporine en methotrexaat (MTX). Hiermee is de kans op acute GvHD beperkt (10-20%) maar blijft het risico op chronische GvHD aanzienlijk (30-40%). Er is discussie over de vraag of er werkelijk een noodzaak is om MTX aan het regime toe te voegen. In een gerandomiseerde trial is aangetoond dat toevoeging van MTX niet zozeer leidt tot minder GvHD, maar wel tot een aanmerkelijke reductie van de transplantatie-gerelateerde mortaliteit (35). Een kanttekening bij deze studie is dat er geen ATG werd toegepast, maar dat alleen cyclofosfamide werd gegeven.

Rekening houdend met bovenstaande adviseert de werkgroep het volgende: ciclosporine 2 maal daags 3.5 mg/kg oraal vanaf dag -3 met een eenmalige oplaaddosis van 7mg/kg oraal in combinatie met MTX 15 mg/ m² intraveneus op dag +1 (minimaal 24 uur na stamcelinfusie) gevolgd door MTX 10 mg/m² intraveneus op dag + 3, + 6 en +11.

In Groot-Brittannië wordt in plaats van ATG ook wel alemtuzumab gebruikt als GvHD profylaxe (36, 37). Er zijn geen data betreffende het effect van de in Nederland veel gebruikte combinatie ciclosporine met mycofenolaatmofetil. Het is essentieel het afbouwen van ciclosporine pas vanaf 9 maanden na transplantatie aan te vangen aangezien voortijdig afbouwen alsnog kan leiden tot transplantaat falen.

Er ontstaat steeds meer ervaring met de combinatie van intensieve in-vivo of in-vitro T cel depletie en het gebruik van gemobiliseerde stamcellen uit perifeer bloed bij patiënten met aplastische anemie. Maar aangezien er geen studies zijn gepubliceerd naar deze manier van transplanteren als eerste lijn behandeling bij volwassen aplastische anemie patiënten met een gematchte sibling donor, acht de commissie het nog te vroeg om dit als advies op te nemen in de richtlijn.

Stamcelbron

Inmiddels is in meerdere studies aangetoond dat het gebruik van beenmerg in plaats van perifeer bloed als stamcelbron leidt tot minder chronische GvHD, ook bij volwassenen (38-41). De werkgroep adviseert derhalve beenmerg als de preferente stamcelbron.

Immuunsuppressieve therapie (IST)

Uitgangsvraag

Wat is de preferente eerste lijn immuunsuppressieve therapie bij volwassen patiënten met verworven aplastische anemie?

Aanbeveling

Behandeling met ATGAM (Pfizer) in combinatie met ciclosporine vanaf dag 1 is de preferente eerste lijn behandeling voor aplastische anemie bij een volwassen patiënt wanneer deze niet in aanmerking komt voor een allogene stamceltransplantatie.

Onderbouwing

Inleiding

ATG is een polyklonale mix van antistoffen die verkregen wordt door immunisatie van een paard (ATGAM; *Pfizer*) of een konijn (Thymoglobuline; *Genzyme* en *Grafalon*; *Fresenius*) met humane thymocyten (ATGAM en Thymoglobuline) of een Jurkat T cellijn (*Grafalon*). Van oudsher bestaat eerste lijn IST bij aplastische anemie uit ciclosporine in combinatie met ATG en kortdurend prednison om serum ziekte als complicatie bij ATG tegen te gaan. De verschillende soorten ATG zijn niet onderling uitwisselbaar. Er is daarom literatuur onderzoek gedaan naar de effectiviteit van de verschillende soorten ATG in de eerste lijn behandeling van volwassen patiënten met verworven aplastische anemie.

Conclusie	SORT Grade
Behandeling met ATGAM (Pfizer) gedurende 4 dagen 40 mg/kg/dag, in combinatie met ciclosporine vanaf dag 1 als eerste lijn behandeling bij een volwassen patiënt met aplastische anemie leidt bij 59-68% van de patiënten na zes maanden tot een hematologische respons (23, 42-44)	A

Samenvatting literatuur

Resultaten

Er is in de jaren 80 één gerandomiseerde studie gedaan waaruit de effectiviteit van ATGAM bij patiënten met aplastische anemie is gebleken (45). Er zijn drie prospectieve studies door de Amerikaanse National Institutes of Health (NIH) uitgevoerd waarin als eerste lijn behandeling de combinatie ATGAM met ciclosporine werd gegeven. Deze behandeling leidde bij 61-68% van de patiënten na zes maanden tot een respons (gedefinieerd als transfusie onafhankelijkheid en granulocyten > 500/ μ l). Een deel van de in totaal 224 patiënten was echter niet volwassen (42-44).

In een prospectieve cohort studie in Nederland van 23 patiënten van 60 jaar of ouder, bleek het responspercentage na zes maanden 59% te zijn (23). Op dit moment is er een EBMT studie gaande waarin de combinatie van ATGAM en ciclosporine wordt vergeleken met ATGAM, ciclosporine en eltrombopag als eerste lijn behandeling. Op basis van de resultaten van de eerder beschreven NIH studies wordt de ciclosporine hierbij gelijk gestart met de ATGAM.

Naar de effectiviteit van de combinatie van Thymoglobuline en ciclosporine bij aplastische anemie zijn vier prospectieve studies gedaan met in totaal 139 patiënten. Drie van deze studies (43, 46, 47) lieten een lager responspercentage na zes maanden zien (37-45%). In de studies van Marsh en Afable was de korte termijn mortaliteit respectievelijk 29% en 12%. In de studie van Scheinberg werd gerandomiseerd tussen ATGAM en Thymoglobuline en deze studie toonde superioriteit van ATGAM wat betreft responspercentage na zes maanden (68% versus 37%) en wat betreft overleving na drie jaar (96% versus 76%). De vierde prospectieve studie toonde een responspercentage na zes maanden van 64% (48).

Naast de vier prospectieve studies zijn er inmiddels acht retrospectieve studies gepubliceerd naar de effectiviteit van Thymoglobuline als eerste lijn behandeling met in totaal 807 patiënten waarin de responspercentages na zes maanden variëren van 24 tot 73% (49-57).

Zoekverantwoording

Database	Zoekterm	Datum	Aantal hits
Pubmed	aplastic anemia and antithymocyte globulin and first line treatment	15-12-2016	70
Pubmed	Aplastic anemia and ATGAM	15-12-2016	992
Pubmed	Aplastic anemia and Thymoglobulin	15-12-2016	29

Evidence tabellen

ATGAM in eerste lijn IST

Studie	Type onderzoek	Aantal patiënten en land	Patiënt kenmerken	Interventie en vergelijkende behandeling	Relevante uitkomstmaten	Opmerkingen
Champlin et al. NJEM 1983	Prospectief, gerandomiseerd 1979-1981	42 Verenigde Staten	Ernstige aplastische anemie: beenmerg 2 uit 3: * ANC < 1000/ul * Reti < 60x10 ³ * Trombo < 50x10 ³ Mediane leeftijd 33 jaar	ATGAM 20 mg/kg/d, 8 dagen in combinatie met Prednison 40 mg/m ² , dag 9-21 Controle groep alleen transfusies	ORR 3 maanden: 11/17 in ATGAM groep 0/14 in controle groep	Ander schema dan tegenwoordig gebruikt Andere definitie van ernstige aplastische anemie Geen ciclosporine toegevoegd Enige gerandomiseerde studie met een controle-arm zonder interventie Niveau C
Rosenfeld et al. JAMA 2003	Prospectief, single arm 1991-1999	122 Verenigde Staten	Ernstige aplastische anemie: beenmerg cellulariteit <30% en 2 uit 3: * ANC < 500/ul * Reti < 40x10 ³ * Trombo < 20x10 ³ 39% zeer ernstig (ANC<200) Mediane leeftijd 35 jaar 31 patiënten jonger dan 18 jaar	ATGAM 40 mg/kg/d, 4 dagen CsA 12-15 mg/kg/d, 6 maanden, streef CsA spiegel 200-400 ng/ml Methylprednisone 1 mg/kg/d, 2 weken	ORR (transfusie onafhankelijk en ANC > 500/ul): ORR 3 maanden 60% ORR 6 maanden 61% OS na 7 jaar: 55%	Ook pediatrische patiënten Patiënten met respons op 3 maanden hadden 5 jaar OS van 86% (versus 40% bij niet-responders) Na staken ciclosporine trad bij 35% van de responderende patiënten een relaps op. In deze groep werd uiteindelijk 60% langdurig (6-7 jaar) met ciclosporine behandeld Geen controle groep Niveau B

Richtlijn verworven aplastische anemie, maart 2019

ATGAM in eerste lijn IST (vervolg)

Studie	Type onderzoek	Aantal patiënten	Patiënt kenmerken	Interventie en vergelijkende behandeling Follow-up (FU) duur	Relevante uitkomstmaten	Opmerkingen Kwaliteitsbeoordeling
Scheinberg et al. Haematologica 2009	Prospectief, gerandomiseerd 2003-2005	42 Verenigde Staten	29% zeer ernstige aplastische anemie Mediane leeftijd 25 jaar	ATGAM 40 mg/kg/d, 4 dagen ciclosporine 10-15 mg/kg/dag Vanaf dag 1, gedurende 6 maanden, streef ciclosporine spiegel 200-400 ng/ml waarna afbouwen in 18 maanden Prednison 1 mg/kg/dag, gedurende 10 dagen waarna afbouwen in 7 dagen	ORR 3 maanden 57% ORR 6 maanden 62% OS na 3 jaar: 90%	Ook pediatrische patiënten Relaps na 3 jaar bij 27% Clonale evolutie 9% na 3 jaar Experimentele arm (zelfde behandeling met daaraan toegevoegd sirolimus) toont vergelijkbare uitkomsten Niveau A
Scheinberg et al. NEJM 2011	Prospectief, gerandomiseerd 2005-2010	60 Verenigde Staten	38% zeer ernstige aplastische anemie Mediane leeftijd 37 jaar	ATGAM 40 mg/kg/d, 4 dagen ciclosporine 10-15 mg/kg/d, Vanaf dag 1, tenminste 6 maanden, streef ciclosporine spiegel 200-400 ng/ml Prednison 1 mg/kg/dag, gedurende 10 dagen waarna afbouwen in 7 dagen	ORR 3 maanden 62% ORR 6 maanden 68% OS na 3 jaar: 96%	Ook pediatrische patiënten Relaps na 3 jaar bij 23% Clonale evolutie 21% na 3 jaar Experimentele arm waarin Thymoglobuline werd gegeven i.p.v. ATGAM had significant slechtere respons en overleving Niveau A
Tjon et al. BJH 2016	Prospectief 9 centra 2012-2016	23 Nederland	35% zeer ernstige aplastische anemie Leeftijd 60 jaar en ouder Mediane leeftijd 64 jaar	ATGAM 40 mg/kg/dag gedurende 4 dagen ciclosporine tenminste 6 maanden, streef ciclosporine spiegel 200-400 ng/ml	ORR 6 maanden 59% OS na 1 jaar: 88%	Complete cohorten per ziekenhuis Niveau B

Thymoglobuline in eerste lijn IST

Studie	Type onderzoek	Aantal patiënten	Patiënt kenmerken	Interventie en vergelijkende behandeling	Relevante uitkomstmaten	Opmerkingen
				Follow-up (FU) duur		Kwaliteitsbeoordeling
Atta et al. Ann Hemat 2010	Retrospectief 1 centrum	29 Brazilië	Ernstige aplastische anemie: beenmerg cellulariteit <30% en (2/3:) * ANC < 500/ul * Reti <40x10 ³ * Trombo < 20x10 ³ 48% zeer ernstig Mediane leeftijd 21	Thymoglobuline 3.5 mg/kg/dag gedurende 5 dagen ciclosporine 10-15 mg/kg/d, vanaf dag 1, tenminste 6 maanden, streef ciclosporine spiegel 200-400 ng/ml Prednison 1 mg/kg/d, gedurende 10 dagen waarna afbouwen in 7 dagen	ORR 6 maanden: 34.5% OS na 2 jaar: 55%	Historische controle met ATGAM (2 jaar OS 78%) Niveau C
Scheinberg et al. NEJM 2011	Prospectief, gerandomiseerd 2005-2010	60 Verenigde Staten	43% zeer ernstig Mediane leeftijd 31 jaar	Thymoglobuline 3.5 mg/kg/d, 5 dagen ciclosporine 10-15 mg/kg/d, vanaf dag 1, tenminste 6 maanden, streef ciclosporine spiegel 200-400 ng/ml Prednison 1 mg/kg/d, gedurende 10 dagen waarna afbouwen in 7 dagen	ORR 3 maanden 33% ORR 6 maanden 37% OS na 3 jaar: 76%	Ook pediatrie patiënten Relaps na 3 jaar bij 11% Clonale evolutie 14% na 3 jaar Niveau A
Afable et al. Haematologica 2011	Prospectief	20 Verenigde Staten	Mediane leeftijd 55 (19-90)	Thymoglobuline 2.5 tot 4 mg/kg/d, 5 dagen In combinatie met ciclosporine, geen details Gemiddelde follow-up 45 maanden	ORR 3 maanden 40% ORR 6 maanden 45% Overlijden <4 maanden 12% 2 jaar OS inclusief historische ATGAM groep 70%	2 jaar OS inclusief historische ATGAM groep 70% Niveau B

Richtlijn verworven aplastische anemie, maart 2019

Thymoglobuline in eerste lijn IST (vervolg)

Studie	Type onderzoek	Aantal patiënten	Patiënt kenmerken	Interventie en vergelijkende behandeling	Relevante uitkomstmaten	Opmerkingen
				Follow-up (FU) duur		Kwaliteitsbeoordeling
Marsh 2012 Blood	Prospectief	35 Europa	20% VSAA 54% SAA 26% NSAA Mediane leeftijd 36 jaar (17-75)	Thymoglobuline 3.75 mg/kg/dag gedurende 5 dagen ciclosporine 5 mg/kg/d, vanaf dag 6, tenminste 6 maanden, streef ciclosporine spiegel 150-250 ng/ml	ORR 3 months 34% ORR 6 months 40% OS 2 jaar 68%	Mortaliteit 28.5% Niveau B
Kadia et al. BJH 2012	Prospectieve fase II studie startte in 2015 in patiënten met MDS en AA; resultaten van de 24 AA patiënten worden apart beschreven	24 Verenigde Staten	Ernstige aplastische anemie: beenmerg cellulariteit <30% en (2/3:) * ANC < 500/ul * Hb <8 g/l * Trombo < 20x10 ³ Mediane ANC 400/ul Leeftijd vanaf 15 jaar Mediane leeftijd 55 jaar	Thymoglobuline 3.5 mg/kg/d, 5 dagen ciclosporine 5 mg/kg/d, vanaf dag 6, tenminste 6 maanden, streef ciclosporine spiegel 200-400 ng/ml (Methyl)prednison 1 mg/kg/d, In 28 dagen afbouwen	Cumulatieve ORR 64% OS na 3 jaar 70%	2 patiënten kort na behandeling lost to follow-up Opvallend verschil met eerder gemelde ORR van 92% bij analyse in eerste 13 aplastische anemie patiënten. Niveau C
Li et al. PlosOne, 2013	Retrospectief 1 centrum 2004-2006	51 China	Zeer ernstige aplastische anemie: 55% Mediane leeftijd 18 (5-62) jaar	Thymoglobuline 3.55 mg/kg/dag gedurende 5 days ciclosporine 3 mg/kg/dag	ORR 3 maanden 26% ORR 6 maanden 41% Mortaliteit eerste 3 maanden 20% OS 50% na 5 jaar	uitkomsten van deze studie worden vergeleken met een volgend cohort waar een lagere dosis ATG gedurende 9 dagen wordt gegeven. Niveau C

Richtlijn verworven aplastische anemie, maart 2019

Thymoglobuline in eerste lijn IST (vervolg)

Studie	Type onderzoek	Aantal patiënten	Patiënt kenmerken	Interventie en vergelijkende behandeling Follow-up (FU) duur	Relevante uitkomstmaten	Opmerkingen Kwaliteitsbeoordeling
Shin et al. Ann Hematol 2013	Retrospectief 2006-2010	53 Korea	Zeer ernstige aplastische anemie; 42% Mediane leeftijd 37 (15-66)	Thymoglobuline 2.5 mg/kg/dag 5 dagen ciclosporine 5 mg/kg/d, vanaf dag 6, tenminste 6 maanden, streef ciclosporine spiegel 150-300 ng/ml (Methyl)prednison 1 mg/kg/d, In 28 dagen afbouwen	ORR 3 months 36% ORR 6 months 45% 7.5% mortaliteit in 2 maanden OS na 5 jaar 84%	Retrospectief Niveau C
Song et al. Leuk Res 2015	Retrospectief 4 centra	62 Korea	Zeer ernstige aplastische anemie; 16% Mediane leeftijd 51 jaar	Thymoglobuline 3.5 mg/kg/dag 5 dagen ciclosporine met streefspiegel 200-400 ng/ml Methylprednison 2mg/kg/dag 5 dagen waarna afbouwen	ORR 3 maanden 43.5% ORR 6 maanden 53.1%	Retrospectief Niveau C
Vallejo et al. Ann. Hematol 2015	Retrospectief, 33 centra, 2001-2012	169 Spanje	zeer ernstige aplastische anemie: 22.5% niet ernstige aplastische anemie: 51% Mediane leeftijd 45 jaar	Thymoglobuline 2.5-4 mg/kg/dag gedurende 5 dagen In combinatie met ciclosporine, geen details Gemiddelde follow up tijd 45 maanden	ORR 3 maanden 62.5% ORR 6 maanden 73.2% Overlijden <4 maanden 12%	Lange termijn OS niet duidelijk. Forse vroege mortaliteit in groep met >50% patiënten met niet ernstige aplastische anemie Onduidelijk waarom deze patiënten met Thymoglobuline werden behandeld, in dezelfde periode ook patiënten met ATGAM en Lymphoglobuline Niveau C

Richtlijn verworven aplastische anemie, maart 2019

Thymoglobuline in eerste lijn IST (vervolg)

Studie	Type onderzoek	Aantal patiënten	Patiënt kenmerken	Interventie en vergelijkende behandeling	Relevante uitkomstmaten	Opmerkingen
				Follow-up (FU) duur		Kwaliteitsbeoordeling
Zhang Exp Hemat 2015	Retrospectief 2003-2012	292 China	zeer ernstige aplastische anemie: 51% Mediane leeftijd 18 jaar	Thymoglobuline 3.5-3.75 mg/kg/d, 5 dagen ciclosporine 6 mg/kg/dag vanaf dag 1, tenminste 6 maanden, streef ciclosporine spiegel 150-250 ng/ml Prednison 1 mg/kg/dag gedurende 14 dagen waarna afbouwen in 7 dagen Follow up: 34 months	ORR 3 maanden 49% ORR 6 maanden 60% Vroege sterfte 5.5% OS na 5 jaar 83%	50% pediatrische patiënten Aziatische populatie Niet duidelijk waarom voor Thymoglobuline werd gekozen bij deze patiënten Niveau C
Liu Ann Hematol 2015	Retrospectief, 2005-2013	32 China	zeer ernstige aplastische anemie: 34% Mediane leeftijd 23 jaar	Thymoglobuline 3.5 mg/kg/d, 5 dagen Ciclosporine 3-5 mg/kg/d, vanaf dag 1, streef ciclosporine spiegel 200-250	ORR 3 months 41% ORR 6 months 61% OS na 2 jaar: 83%	Retrospectief >40% kinderen Niveau C
Suzuki et al. Int J Hemat 2016	Retrospectief, 1 centrum 1998-2015	22 Japan	zeer ernstige aplastische anemie: 45.5% Mediane leeftijd 53 jaar	Thymoglobuline 3.5 mg/kg/dag gedurende 5 dagen ciclosporine 5-6 mg/kg/dag vanaf dag 1, tenminste 6 maanden, streef ciclosporine spiegel 150-250 ng/ml	ORR 3 months 55% ORR 6 months 65% OS na 2 jaar: 90%	68% had bij diagnose aantoonbare PNH kloon Niveau C

Richtlijn verworven aplastische anemie, maart 2019

Thymoglobuline in eerste lijn IST (vervolg)

Studie	Type onderzoek	Aantal patiënten	Patiënt kenmerken	Interventie en vergelijkende behandeling	Relevante uitkomstmaten	Opmerkingen
				Follow-up (FU) duur		Kwaliteitsbeoordeling
Chuncharunee Int J Hemat 2016	Retrospectief, Multicenter 2006-2012	97 Thailand, China, Taiwan, Maleisië	zeer ernstige aplastische anemie:13% Mediane leeftijd 34 jaar	Thymoglobuline in verschillende doseringen daarnaast ook verschillende andere medicatie	ORR 3 months 6% ORR 6 months 24% OS na 2 jaar: 83%	Retrospectief Niveau C

Overwegingen

Op basis van de uitkomsten van de drie prospectieve NIH studies en de analyse door Tjon van het NVvH register aplastische anemie (23), adviseert de werkgroep om ATGAM met ciclosporine vanaf dag 1 te gebruiken als eerste lijn IST bij volwassen patiënten met verworven aplastische anemie.

Op basis van het responspercentage en de mortaliteit in de prospectieve studies naar de effectiviteit en veiligheid van Thymoglobuline als eerste lijn behandeling van aplastische anemie, geeft de werkgroep niet de voorkeur aan Thymoglobuline als ATG in de eerste lijn behandeling bij volwassen patiënten. Aangezien zeven van de negen retrospectieve studies met Thymoglobuline werden uitgevoerd in Azië en de mediane leeftijd van de patiënten in de grootste studie (292 patiënten) 18 was (53), betwijfelt de werkgroep of deze uitkomsten een voorspellende waarde hebben voor de resultaten van deze behandeling bij volwassen patiënten in Europa. Er is in Europa één retrospectieve analyse gedaan naar de effectiviteit van Thymoglobuline bij 169 Spaanse patiënten (52) met een respons percentage op zes maanden van 73%. Aangezien 12% van de patiënten in deze studie binnen 4 maanden overlijdt en niet duidelijk is waarom dit cohort patiënten behandeld werd met Thymoglobuline terwijl in dezelfde periode ook patiënten ATGAM of Lymphoglobuline kregen, acht de werkgroep de kwaliteit van deze retrospectieve analyse als onvoldoende om tegenwicht te geven aan het slechtere responspercentage in de prospectieve studies zoals boven beschreven.

Tabel 3. Behandelschema IST		
ATGAM (paard-ATG)	40 mg/kg/dag i.v.	dag 1-4
ciclosporine*	5 mg/kg/dag p.o	dag 1-180, langzaam afbouwen na stabilisatie van respons
prednison	1 mg/kg/dag i.v.	dag 1-4
prednison	1 mg/kg/dag p.o	dag 5-14, hierna afbouwen tot stop in 14 dagen

* Streefwaarde serum dalspiegel: 200-300µg/L.

Bij patiënten van 60 jaar en ouder streefwaarde serum dalspiegel: 150-200µg/L

Tabel 4. Definitie respons na IST	
complete respons	Normalisatie van het bloedbeeld
partiële respons	neutrofielen > 0.5 x 10 ⁹ /L en transfusie onafhankelijkheid

Uitgangsvraag

Wat te doen met ciclosporine bij patiënten die zes maanden na start van immuunsuppressieve therapie responderen?

Aanbeveling

Indien de toxiciteit van de ciclosporine dit toe laat adviseert de werkgroep om de ciclosporine dosering bij een stabiele hematologische respons per twee maanden af te bouwen met 25 mg.

Onderbouwing

Inleiding

Van oudsher wordt in de meeste Europese centra de ciclosporine bij een patiënt met een stabiele hematologische respons vanaf zes tot twaalf maanden afgebouwd met ongeveer 25 mg per twee maanden. Een deel van de patiënten lijkt een, vaak minimale, hoeveelheid ciclosporine nodig te hebben voor een aanhoudende stabiele respons. In de Verenigde Staten wordt de ciclosporine na zes maanden meestal direct geheel gestaakt. Indien er daarna een verslechtering van de bloedwaarden optreedt, wordt de ciclosporine weer hervat in de oorspronkelijke dosering.

Conclusie	SORT grade
Indien er na zes maanden een respons is op ATG en ciclosporine adviseert de werkgroep om de ciclosporine te continueren zolang er nog een stijging is van de bloedwaarden. Indien de respons stabiliseert kan gestart worden met het afbouwen van de ciclosporine met 25 mg per 2 maanden. Indien er tijdens het afbouwen van de ciclosporine een verslechtering van de bloedwaarden optreedt, kan de dosering weer worden opgehoogd.	C

Samenvatting literatuur

Resultaten

Er zijn twee studies gepubliceerd over het afbouwen van ciclosporine. In een Italiaanse studie werden retrospectief patiënten vergeleken bij wie de ciclosporine snel of langzaam werd afgebouwd. Aangezien het niet duidelijk is op basis waarvan de beslissing werd genomen om snel dan wel langzaam af te bouwen is deze vergelijking niet goed te interpreteren. Wel blijkt dat uiteindelijk 18% van de patiënten voor een aanhoudende respons afhankelijk blijft van een lage dosis ciclosporine (58).

Scheinberg publiceerde de uitkomsten van een prospectieve studie van de NIH waarin ciclosporine in 18 maanden werd afgebouwd en vergeleek de resultaten met een historisch controle cohort waarin de ciclosporine abrupt werd gestaakt na 6 maanden (59). De cumulatieve relapse-rate was vergelijkbaar in de twee cohorten (33-36% op 5 jaar) maar de mediane tijd tot deze relaps was korter in het historische controle cohort (1 jaar versus 2 jaar na start behandeling). In deze studie blijkt uiteindelijk 15% van de patiënten afhankelijk van ciclosporine te blijven. In de meest recent gepubliceerde studie van de NIH over eerste lijn IST bleek dat wanneer na de combinatie ATGAM, eltrombopag en ciclosporine na zes maanden de ciclosporine samen met de eltrombopag werd gestaakt het relaps percentage 54% bedroeg. Op basis hiervan werd het protocol aangepast zodat de ciclosporine nog tot twee jaar in lagere dosis doorgegeven kon worden waarna het recidief percentage daalde naar 14% (60).

Richtlijn verworven aplastische anemie, maart 2019

- Zoekverantwoording

Database	Zoektermen	Datum	Aantal hits
Pubmed	"Aplastic anemia" and "cyclosporin"	06-06-2017	1119
Pubmed	"Aplastic anemia" and "cyclosporin" and "tapering"	06-06-2017	17

Richtlijn verworven aplastische anemie, maart 2019

Ciclosporine afbouwen na IST

Studie	Type onderzoek	Aantal patiënten	Patiënt kenmerken	Interventie en vergelijkende behandeling Follow-up (FU) duur	Relevante uitkomstmaten	Opmerkingen Kwaliteitsbeoordeling
Scheinberg et al. Am J Hematol 2014	Prospectief cohort (2003-2010) vergeleken met historisch cohort	67	Responderende patiënten 67 uit 102	Prospectief cohort: ciclosporine in 18 maanden afbouwen Historisch cohort: ciclosporine staken na 6 maanden Mediane follow up 4.9 jaar	Cumulatieve relapse-rate op 5 jaar prospectief vs historisch: 33% vs 36% In 11 van de 16 patiënten met een relaps leidde ophogen van ciclosporine tot herstel van respons Mediane periode tot relaps prospectief vs historisch: 2 jaar vs 1 jaar na start behandeling	Prospectief cohort 15% van patiënten blijft ciclosporine afhankelijk Niveau B
Saracco BJH 2007	Retrospectief 1991-1999	40	Pediatrische patiënten	Langzaam of snel afbouwen	18% bleef ciclosporine afhankelijk	Niet duidelijk onder welke omstandigheden snel danwel langzaam ciclosporine werd afgebouwd Niveau C

Overweging

Er zijn geen prospectieve vergelijkende studies gedaan in patiënten die responderen op ATG en ciclosporine waarin het abrupt stoppen van de ciclosporine vergeleken wordt met het geleidelijk afbouwen. De kans op een recidief lijkt op basis van de studie van Scheinberg (59) niet toegenomen bij het abrupt staken. Bij beide strategieën lijkt uiteindelijk ongeveer 15% van de patiënten ciclosporine afhankelijk te blijven. In de Europese behandelprotocollen wordt van oudsher de ciclosporine geleidelijk afgebouwd. In het Nederlandse register blijkt dat er bij een aantal patiënten nog een duidelijke verbetering van de hematologische respons optreedt wanneer de ciclosporine langer dan zes maanden wordt gecontinueerd. Daarom adviseert de werkgroep om de ciclosporine na het behalen van een stabiele respons geleidelijk af te bouwen. Hiermee volgen we ook de Britse richtlijnen (1). Indien er sprake is van ernstige ciclosporine toxiciteit kan dat reden zijn om de ciclosporine sneller te staken of af te bouwen.

Uitgangsvraag

Is eerste lijn immuunsuppressieve therapie effectief en veilig bij patiënten met verworven aplastische anemie ouder dan 60 jaar?

Aanbeveling

Behandeling met ATGAM (Pfizer) in combinatie met ciclosporine vanaf dag 1 is ook voor patiënten met verworven aplastische anemie van 60 jaar of ouder de preferente eerste lijn behandeling.

Onderbouwing

Inleiding

De incidentie van aplastische anemie boven de leeftijd van 60 jaar neemt toe. Vanwege verhoogde kans op mortaliteit en morbiditeit is een alloHSCT niet de preferente eerste lijn behandeling voor deze patiënten, hoewel hier in individuele gevallen van afgeweken kan worden. Behandeling met IST is om die reden de behandeling van eerste keuze. Het aantal studies dat gericht kijkt naar de veiligheid en effectiviteit van IST met ATGAM voor patiënten met aplastische anemie van 60 jaar of ouder is echter beperkt.

Conclusie	SORT grade
Eerste lijn behandeling met ATGAM in combinatie met ciclosporine leidt bij 50-60% van de patiënten van 60 jaar of ouder tot een respons (transfusie onafhankelijkheid en granulocyten $> 0.5 \times 10^9/L$) (23, 61, 62).	B
ciclosporine monotherapie kan tot een respons leiden bij patiënten met niet-ernstige aplastische anemie (63). Indien wordt afgezien van behandeling met ATGAM kan ook bij ernstige aplastische anemie ciclosporine monotherapie worden overwogen.	C

Samenvatting literatuur

Resultaten

Er zijn slechts enkele studies beschikbaar die gericht de veiligheid en effectiviteit van IST met ATGAM of Lymphoglobulin bij patiënten van 60 jaar of ouder evalueren. De studies betreffen met name retrospectieve studies, of prospectieve cohortstudies met kleine patiënten-aantallen. Tevens is er veel variatie in samenstelling en dosering van de IST. De kans op respons 6 maanden na behandeling met paard-ATG (ATGAM of Lymphoglobulin) in combinatie met ciclosporine is bij patiënten van 60 jaar of ouder vergelijkbaar met de respons van volwassenen onder de 60 jaar; namelijk 50 tot 60% (4, 23, 61, 62). ATGAM lijkt bij oudere patiënten vaker tot cardiale toxiciteit te leiden (23, 62). Een duidelijke correlatie tussen het bestaan van co-morbiditeit voorafgaand aan de behandeling met ATGAM en het optreden van toxiciteit is in deze kleine studies niet aantoonbaar. Een prospectieve single-arm studie van 14 oudere patiënten uit drie centra in Engeland wees uit dat behandeling met laag-gedoseerd Lymphoglobulin als monotherapie goed werd verdragen. Echter, slechts 1 van de 14 patiënten bereikte een partiële respons na 6 maanden (64). Een recente studie wees uit dat ATGAM in een lagere dosering (15mg/kg/dag dag1-5) mogelijk even effectief is in combinatie met ciclosporine als de standaard dosering ATGAM (40mg/kg/dag dag1-4) (65).

Op basis van de beschikbare literatuur is er geen absolute contra-indicatie voor ATGAM bij oudere patiënten met aplastische anemie. In een prospectieve gerandomiseerde studie van de EBMT waarin patiënten met niet-ernstige aplastische anemie worden behandeld met ATG (Lymphoglobulin) in combinatie met ciclosporine of met ciclosporine monotherapie, bereikt 46% van de patiënten een respons met ciclosporine monotherapie (63). Indien besloten wordt niet te behandelen met ATGAM, kan worden gekozen voor ciclosporine monotherapie omdat de verwachting is dat deze behandeling ook bij patiënten met een ernstige aplastische anemie tot een respons kan leiden. Tenslotte kan overwogen worden een lagere ciclosporinespiegel (150-200 µg/L) na te streven in verband met een hogere kans op ciclosporine-geassocieerde toxiciteit bij oudere patiënten.

Zoekverantwoording

Database	Zoektermen	Datum	Aantal hits
Pubmed	"Aplastic anemia" and "elderly"	06-06-2017	4498
Pubmed	("Anemia, Aplastic"[Mesh] AND "Antilymphocyte Serum"[Mesh]) AND "Aged"[Mesh]	06-06-2017	183

Evidence table IST bij patiënten 60 jaar en ouder

Studie	Type onderzoek	patiënten-aantal en kenmerken	interventie	Relevante uitkomsten	Opmerkingen Kwaliteitsbeoordeling
Tichelli Ann Intern Med. 1999	56 centra (EBMT) Retrospectief (1974-1997)	127 patiënten Mediane leeftijd 67 jaar (60-89)	ATG: 59% ciclosporine: 17% ATG+ciclosporine: 24%	Respons na 12 maanden: 52% 5 yr survivalrate: 50% versus 72% in leeftijdscategorie 20- 50 jaar	Behandeling is niet uniform. Geen data over toxiciteit beschikbaar Niveau B
Killick Leuk Res 2006	3 centra Prospectief Single-arm Engeland	14 patiënten Mediane leeftijd 71 jaar (62-74)	ATG 5mg/kg/dag 1/3 van de standaarddosering	Respons na 6 maanden: 1 partiële respons 2 overleden < 6 mnd Minimale toxiciteit	Behandeling wijkt af van de nu geldende standaard Niveau B
Kao Br J Haematol 2008	1 centrum Retrospectief (1993-2007) Canada	24 patiënten Mediane leeftijd 70 jaar (61-78)	ATGAM of Thymoglobulin in standaarddosis of gereduceerde dosis in combinatie met CsA	Respons na 2 jaar: 49% 6 overleden <6 mnd 3jr OS: 43%	Behandeling is niet uniform Niveau B
Scheinberg Br J Haematol 2009	1 centrum Retrospectief (1989-2005) Verenigde Staten	51 patiënten ouder dan 60 jaar (geen mediane leeftijd en range beschikbaar)	ATG+ciclosporine, alleen of in combinatie met mycofenolaatmofetil of sirolimus	Respons na 6 maanden: 53%	Behandeling is niet uniform. Geen data voor toxiciteit en overleving in de subgroep ouder dan 60 jaar. Niveau B
Tjon Br J Haematol 2016	10 centra Prospectief (2012-2016) Nederland	23 patiënten Mediane leeftijd 64 jaar (60-79)	ATGAM in combinatie met ciclosporine in standaard dosering	Respons na 6 maanden: 59% 1 overleden <6 mnd OS 12 maanden: 88% 2 patiënten met ernstige cardiale bijwerkingen	Uniforme behandeling Klein patiënten-aantal Niveau B

Overweging

Op basis van de beschikbare gegevens in de literatuur, internationale richtlijnen en expert opinies, is de werkgroep van mening dat leeftijd geen absolute contra-indicatie is voor ATGAM in combinatie met ciclosporine bij oudere patiënten met aplastische anemie. Tevens is er onvoldoende bewijs dat ernstige bijwerkingen als gevolg van ATGAM gecorreleerd zijn aan pre-existente co-morbiditeit. De werkgroep adviseert de behandelkeuze per individu af te wegen.

Overige eerste lijn behandeling

Androgenen

Er wordt gesuggereerd dat behandeling met androgenen kan leiden tot een verhoging van telomerase activiteit bij patiënten met mutaties in genen die een rol spelen bij het in stand houden van adequate telomeerlengte (66-68). Een Mexicaanse studie naar de effecten van behandeling met danazol (gemiddelde dagdosis 400 mg gedurende een periode van mediaan 1 jaar) bij 37 patiënten met een aplastische anemie voor wie geen donor of ATG beschikbaar was, toonde een responspercentage van 46%. De overleving na 5 jaar was 41%. (69). In een prospectieve studie van patiënten die refractair waren of een recidief ontwikkelden na IST werden patiënten behandeld met 300 mg danazol gedurende 12 weken (70). Alle patiënten voltooiden deze therapie zonder ernstige complicaties. Bij 3 van de 4 vrouwen en 2 van de 12 mannen was er een partiële respons. Behandeling met androgenen in de eerste lijn is derhalve alleen een overweging bij patiënten die geen ATG of alloHSCT verdragen.

Eltrombopag

Een Amerikaanse prospectieve cohort studie van 92 patiënten (mediane leeftijd 32 jaar) met een mediane follow-up periode van 23 maanden liet zien dat het toevoegen van de trombopoietine-receptor agonist eltrombopag aan ATGAM en ciclosporine als eerste lijn behandeling leidde tot een responspercentage van 74% na 3 maanden en 80% na 6 maanden. Hierbij was het responspercentage het hoogst in het cohort patiënten dat vanaf dag 1 gedurende zes maanden werd behandeld met eltrombopag (94% na zes maanden)(60).

Een potentieel gevolg van het gebruik van eltrombopag bij patiënten met een beenmerg aandoening is de uitgroei van een (pre)maligne cel kloon, met name een kloon met monosomie 7, wat geassocieerd is met het ontstaan van MDS of AML. In een studie naar het effect van eltrombopag bij patiënten die refractair waren op eerdere IST ontwikkelden 8 van de 43 patiënten nieuwe cytogenetische afwijkingen gedurende de behandeling met eltrombopag(71). In de eerder genoemde studie naar het gebruik van eltrombopag in de eerste lijn behandeling ontwikkelde 8% van de patiënten een nieuwe cytogenetische afwijking, bij de meerderheid een monosomie 7(60). Dit percentage is vergelijkbaar met het percentage in een historisch controle cohort. Hierbij dient opgemerkt te worden dat de mediane tijd tot aan clonale evolutie na behandeling met IST 4 tot 6 jaar is waardoor de follow-up periode van de huidige studie nog te kort is om uit te sluiten dat er een toename is van clonale evolutie na toevoegen van eltrombopag aan de eerste lijn behandeling van verworven aplastische anemie.

Om de plaats te bepalen van eltrombopag in de eerste lijn IST bij aplastische anemie startte de EBMT een gerandomiseerde studie (RACE-trial *NCT02099747*) naar het toevoegen van eltrombopag aan standaard eerste lijn IST (ATGAM en ciclosporine).

Richtlijn verworven aplastische anemie, maart 2019

Het primaire eindpunt van deze studie is het percentage complete respons na drie maanden en secundaire eindpunten omvatten onder andere clonale evolutie en het ontstaan van secundaire beenmerg aandoeningen. In Nederland participeren het LUMC, AMC, UMCU en UMCG aan deze studie. De werkgroep is van mening dat de uitkomsten van deze studie en een langere follow-up van de Amerikaanse studie moeten worden afgewacht voordat eltrombopag wordt toegevoegd aan de standaard eerste lijn behandeling van aplastische anemie bij volwassenen.

Specifieke vragen met betrekking tot eerste lijn immuunsuppressieve behandeling

Zwangerschap na IST

Uitgangsvraag

Hoe dient te worden omgegaan met zwangerschapswens en zwangerschap bij vrouwelijke patiënten met verworven aplastische anemie na immuunsuppressieve behandeling?

Aanbevelingen

- Vrouwen dienen te worden voorgelicht over de kans op een recidief aplastische anemie tijdens de zwangerschap en frequent te worden gecontroleerd in geval van zwangerschap.
- Tijdens de zwangerschap heeft supportieve behandeling middels transfusies de voorkeur
- In individuele gevallen kan worden gekozen voor behandeling met ciclosporine tijdens de zwangerschap

Onderbouwing

Inleiding

Bijzondere aandacht dient te worden besteed aan vrouwelijke patiënten met verworven aplastische anemie die na behandeling met IST een zwangerschapswens hebben. Zwangerschap kan leiden tot een recidief van de aplastische anemie.

Conclusie	SORT Grade
Vrouwelijke aplastische anemie patiënten die na IST zwanger worden hebben een kans op een recidief aplastische anemie tijdens de zwangerschap (72)	C

Samenvatting literatuur

Resultaten

Vrouwelijke aplastische anemie patiënten die na IST zwanger worden hebben een kans op een recidief aplastische anemie tijdens de zwangerschap. In een retrospectieve studie van de EBMT working party on aplastic anemia worden 36 zwangere vrouwen na IST beschreven (72). Van deze patiënten ontwikkelden 7 een recidief waarvan drie patiënten spontaan herstelden na de partus en waarvan vier patiënten een tweede maal IST kregen. Drie patiënten herstelden na een tweede maal IST. Een patiënte was echter refractair op de tweede lijn behandeling. Bij 5 patiënten was sprake van een geïsoleerde trombocytopenie waarvoor transfusie noodzakelijk was rondom de partus. Recidief aplastische anemie trad zowel op bij vrouwen die voor de zwangerschap in complete remissie waren als bij vrouwen die geen volledige normalisatie van het bloedbeeld hadden. Twee patiënten werden gedurende de zwangerschap behandeld met ciclosporine zonder nadelig effect op het kind (72). Een grote studie naar zwangere patiënten die chronisch ciclosporine gebruikten in verband met een orgaantransplantatie wees uit dat ciclosporine wel kan leiden tot groeivertraging in utero en mogelijk tot verstoorde ontwikkeling van het immuunsysteem (73). Supportieve behandeling met transfusies is de preferente behandeling in geval van zwangerschap IST (1).

Zoekverantwoording

Er is slechts 1 studie die gericht kijkt naar vrouwelijke patiënten met verworven aplastische anemie die zwanger werden na IST. Er werd om die reden geen systematisch literatuuronderzoek gedaan. Er werd gebruik gemaakt van bestaande richtlijnen, reviews, expert-opinie en de mening van de werkgroepleden.

Overweging

Op basis van de EBMT-studie uit 2002 en expert opinies adviseert de werkgroep om vrouwelijke patiënten voor te lichten over de kans op recidief ziekte tijdens zwangerschap en de daarbij behorende kans op complicaties gedurende de zwangerschap en partus. Bij zwangschapswens adviseert de werkgroep om de aanwezigheid van een PNH clone te bepalen omdat dit mogelijk consequenties heeft voor behandeling met eculizumab tijdens de zwangerschap. Hierbij verwijzen wij ook naar de richtlijn PNH. Tijdens de zwangerschap is frequente controle in deze patiëntengroep geïndiceerd. De werkgroep is van mening dat in geval van recidief ziekte tijdens de zwangerschap supportieve behandeling met transfusies de voorkeur heeft. Behandeling met ciclosporine in de zwangerschap kan in individuele gevallen worden overwogen.

Lange termijn follow-up na immuunsuppressieve therapie

Uitgangsvraag

Hoe is de follow-up van patiënten met verworven aplastische anemie na immuunsuppressieve therapie?

Aanbevelingen

- Na behandeling met immuunsuppressieve therapie (ATGAM en ciclosporine) dienen patiënten voor onbepaalde tijd te worden vervolgd vanwege de kans op recidief ziekte en het ontwikkelen van secundaire maligniteiten.
- Beenmergonderzoek dient te worden verricht indien er 6 maanden na start van de behandeling geen respons is en indien er sprake is van verlies van respons.
- Screening op de aanwezigheid van een glycosylphosphatidylinositol (GPI)-deficiënte celkloon dient plaats te vinden zoals aanbevolen onder de uitgangsvraag “Hoe om te gaan met de combinatie aplastische anemie en paroxismale nocturnale hemoglobinurie”

Onderbouwing

Inleiding

Na behandeling met IST is er kans op recidief van de ziekte, het ontwikkelen van paroxismale nocturnale hemoglobinurie (PNH) of progressie naar een myelodysplastisch syndroom (MDS) of een acute myeloïde leukemie (AML). Patiënten dienen derhalve voor onbepaalde tijd onder controle te blijven om veranderingen in klinisch beeld en/of het bloedbeeld tijdig te kunnen ondervangen.

Conclusie	SORT Grade
Na het bereiken van een respons na IST met ATGAM en ciclosporine ontwikkelt ongeveer 35% van de patiënten een recidief aplastische anemie (42)	B
Ongeveer 15% van de responderende patiënten ontwikkelt een MDS of AML (3)	B
Aanwezigheid van een GPI-deficiënte celkloon kan uiteindelijk leiden tot overte PNH (74)	B

Samenvatting literatuur

Resultaten

Na het bereiken van een respons na IST met ATGAM en ciclosporine ontwikkelt ongeveer 35% van de patiënten een recidief aplastische anemie (42). Ongeveer 15% van de responderende patiënten ontwikkelt een MDS of AML (3). Ook het risico op het ontwikkelen van solide tumoren is verhoogd (75, 76). Patiënten dienen om die reden voor onbepaalde tijd onder controle te blijven teneinde een recidief of secundaire hematologische of solide maligniteit tijdig te ondervangen. Beenmergonderzoek dient te worden verricht indien er 6 maanden na start van de behandeling geen respons is. Het is aan te raden bij verslechtering van het bloedbeeld het beenmergonderzoek te herhalen om onderscheid te maken tussen een recidief aplastische anemie en een secundaire MDS of AML. De aanwezigheid van een kloon met monosomie 7 bij cytogenetisch onderzoek van het beenmerg is geassocieerd met een hoog risico op het ontwikkelen van AML (77). Er dient in ieder geval jaarlijks te worden gescreend op het ontstaan van een GPI-deficiënte celkloon (ook PNH kloon genoemd) aangezien deze kan uitgroeien en leiden tot overte PNH (74). Indien een GPI-deficiënte celkloon is aangetoond dient dit onderzoek frequenter herhaald te worden om eventuele progressie te vervolgen (zie ook de uitgangsvraag “Hoe om te gaan met de combinatie aplastische anemie en paroxismale nocturnale hemoglobinurie” elders in deze richtlijn).

Zoekverantwoording

Gezien het ontbreken van gerichte studies naar hoe de lange termijn follow-up na behandeling met IST dient te worden uitgevoerd werd geen systematisch literatuuronderzoek gedaan. Er werd gebruik gemaakt van bestaande richtlijnen, reviews, expert-opinie en de mening van de werkgroepleden.

Overweging

Op basis van de beschikbare literatuur, internationale richtlijnen en expert opinies is de werkgroep van mening dat patiënten met verworven aplastische anemie na behandeling met IST voor onbepaalde tijd onder controle dienen te blijven vanwege de kans op recidief aplastische anemie of secundaire hematologische of solide maligniteit. De werkgroep adviseert om beenmergonderzoek te verrichten indien 6 maanden na start van de behandeling geen verbetering van het bloedbeeld is opgetreden of indien er sprake is van verlies van respons. De frequentie van het bepalen van een GPI-deficiënte cel-kloon is gebaseerd op expert opinie en komt overeen met het advies zoals beschreven onder de uitgangsvraag “Hoe om te gaan met de combinatie aplastische anemie en paroxismale nocturnale hemoglobininurie” elders in deze richtlijn. In de meerderheid van de patiënten zijn de lymfocyten subsets binnen 3 weken hersteld. De werkgroep adviseert om de lymfocyten subsets te controleren tot voldoende herstel van de T cellen waarbij het te overwegen is om bij een CD4 getal $>200 \times 10^6/L$ de antibiotische en antivirale profylaxe te staken (19). Zoals aangegeven onder het kopje “profylactische antibiotica” zijn er geen gerichte studies naar profylactische maatregelen bij aplastische anemie.

Tabel 5. Follow-up na IST			
Onderzoek	Jaar 1	Jaar 2	Jaar 3 en verder
Volledig bloedbeeld inclusief reticulocyten en leukocytendifferentiatie*	op geleide van de bloedwaarden In ieder geval iedere 3 maanden	ledere maanden 6	Jaarlijks
Lymfocyten subsets (T, B en NK cellen)**	tot aan voldoende herstel van T cellen	Op indicatie	Op indicatie
Chemie: nier- en leverwaarden***, haptoglobine	maand 1: wekelijks maand 2-6: maandelijks maand 6-12: 1x per 3 maanden	ledere maanden 6	Op indicatie
PNH kloon	Indien <u>geen</u> PNH kloon aanwezig bij	Indien <u>geen</u> PNH kloon aanwezig bij	Indien <u>geen</u>

	diagnose vervolg eenmaal per 6 maanden Indien <u>wel</u> PNH kloon aanwezig bij diagnose vervolg eenmaal per 3 maanden	diagnose vervolg eenmaal per 6 maanden Indien <u>wel</u> PNH kloon aanwezig bij diagnose vervolg eenmaal per 3 maanden	PNH kloon aanwezig: follow up 1x per jaar Indien <u>wel</u> PNH kloon aanwezig met stabiel beeld: follow up 1x per 6 maanden
Virale load EBV/CMV	Op indicatie	Op indicatie	Op indicatie
Ciclosporine dalspiegel	Op geleide van streefwaarde 200-300µg/L (ouderen 150-200µg/L)	Op indicatie	Op indicatie
Beenmergafname****: aspiraats voor morfologie, immunofenotypering en cytogenetica histologisch biops	Maand 6 indien er onvoldoende herstel van het bloedbeeld is opgetreden	Bij verslechtering van het bloedbeeld	Bij verslechtering van het bloedbeeld

* Bij voldoende herstel van de neutrofielen ($> 0.5 \times 10^9/L$) kan de antifungale profylaxe worden gestaakt

** Bij voldoende herstel van de T cellen ($CD4$ getal $>200 \times 10^6/L$) kan overwogen worden de antibiotische en antivirale profylaxe te staken

*** In verband met ciclosporine gerelateerde toxiciteit

**** Ter onderscheiding van refractaire aplastische anemie, relaps of evolutie naar MDS/leukemie

NB: Op basis van de kliniek dient aanvullend onderzoek plaats te vinden buiten de geadviseerde meetmomenten

Aplastische anemie en paroxismale nocturnale hemoglobinurie

Uitgangsvraag

Hoe om te gaan met de combinatie (zeer) ernstige aplastische anemie en paroxismale nocturnale hemoglobinurie?

Aanbevelingen

- Bij elke patiënt met aplastische anemie moet onderzoek gedaan worden naar de aanwezigheid van een PNH kloon (voor bepaling PNH kloon: zie richtlijn PNH).
- Indien geen PNH kloon aanwezig is, dient het onderzoek naar een PNH kloon de eerste 2 jaar elke 6 maanden herhaald te worden. Indien de kloon negatief blijft, daarna jaarlijks. Indien wel een PNH kloon aanwezig is, dient de kloongrootte de eerste 2 jaar elke 3 maanden vervolgd te worden. Daarna, bij gelijkblijvende kloongrootte, elke 6 maanden.
- De aanwezigheid van een kleine PNH kloon zonder tekenen van hemolyse beïnvloedt de keuze voor de behandeling van de aplastische anemie niet.
- De aanwezigheid van een grote PNH kloon al dan niet met tekenen van hemolyse beïnvloedt de behandeling van de aplastische anemie zelf niet. Echter, naast behandeling van de aplastische anemie moet tevens behandeling gericht op het voorkomen van complicaties van PNH overwogen worden (conform de richtlijn PNH)

Onderbouwing:

Inleiding

Bij een aanzienlijk deel (tot > 50%) van de patiënten met aplastische anemie kan een PNH-kloon worden aangetoond bij diagnose of in de loop van de tijd. Meestal gaat het om een kleine PNH kloon zonder tekenen van hemolyse. Soms is bij aplastische anemie echter sprake van een grotere PNH kloon en verhoogde hemolyseparameters.

Conclusie	SORT Grade
Bij elke patiënt met aplastische anemie moet onderzoek gedaan worden naar de aanwezigheid van een PNH kloon (voor bepaling PNH kloon: zie richtlijn PNH). (1, 75, 78-80)	A-B
Indien <u>geen</u> PNH kloon aanwezig is, dient het onderzoek naar een PNH kloon de eerste 2 jaar elke 6 maanden herhaald te worden. Indien de kloon negatief blijft, daarna jaarlijks. Indien <u>wel</u> een PNH kloon aanwezig is, dient de kloongrootte de eerste 2 jaar elke 3 maanden vervolgd te worden. Daarna, bij gelijkblijvende kloongrootte, elke 6 maanden. (5, 75, 81, 82)	C
De aanwezigheid van een kleine PNH kloon zonder tekenen van hemolyse beïnvloedt de keuze voor de behandeling van de aplastische anemie niet. (5, 79, 83-85)	C
De aanwezigheid van een grote PNH kloon al dan niet met tekenen van hemolyse beïnvloedt de behandeling van de aplastische anemie zelf niet. Echter, naast behandeling van de aplastische anemie moet tevens behandeling gericht op (het voorkomen van complicaties van) de PNH overwogen worden (conform de richtlijn PNH) (5, 79, 83-85)	C

Samenvatting literatuur:

Resultaten

Beschikbare studies naar de aanwezigheid van een PNH kloon bij aplastische anemie tonen aan dat een PNH kloon vaak voorkomt bij aplastische anemie (1, 5, 78-80, 85). Zo rapporteren Dunn et al dat bij 22% van de 115 aplastische anemie patiënten een PNH kloon werd gevonden (78). Kulagin et al. en Scheinberg et al. vinden een PNH kloon bij respectievelijk 59% (125 patiënten, elke kloongrootte) en 40% (207 patiënten, kloongrootte >1%) van de patiënten die behandeling met ATG en ciclosporine zullen ondergaan (5, 79). Sugimori et al vinden een PNH kloon bij 68% van de AA patiënten, waarbij belangrijk is om op te merken dat bij ruim 40% de kloongrootte < 0,1% was (85).

Gedurende het beloop van de aplastische anemie kan een PNH kloon ontstaan of in grootte veranderen. Dit kan ook gebeuren na succesvolle behandeling van de aplastische anemie met IST bestaande uit ATG en ciclosporine. Frickhofen et al. stelden met de HAM test (minder gevoelig dan de tegenwoordig gebruikte flowcytometrie) PNH vast bij 5 van de 84 patiënten die waren behandeld voor aplastische anemie (75). Scheinberg et al. vonden in hun cohort patiënten, dat ATG en ciclosporine ontving, dat bij 25% de PNH kloon in grootte toenam na deze behandeling (bij 15% een kloongrootte tot >50%)(5).

Er zijn in de literatuur aanwijzingen dat de aanwezigheid van een PNH kloon voorspellende waarde heeft voor de respons op behandeling van aplastische anemie. De resultaten van verschillende studies zijn echter tegenstrijdig. Zo vinden De Lord et al. en Scheinberg et al. geen verschil in respons op IST op basis van de aanwezigheid van een PNH kloon. Kulagin et al, Schrezenmeier en Sugimori et al vinden een positief voorspellende waarde van de aanwezigheid van een PNH kloon op de respons op IST.

Zoekverantwoording

Gezien het ontbreken van gerichte studies naar het bepalen van de aanwezigheid van een PNH kloon bij diagnose en naar de frequentie van follow up van een PNH kloon bij aplastische anemie, werd geen systematisch literatuuronderzoek gedaan. Er werd gebruik gemaakt van bestaande richtlijnen, reviews, expert-opinie en de mening van de werkgroepleden.

Overwegingen

Op basis van de beschikbare gegevens in de literatuur en conform internationale reviews en expert opinies, is er naar mening van de werkgroep voldoende grond om te concluderen dat er bij patiënten met aplastische anemie zowel bij diagnose als tijdens follow-up onderzoek gedaan moet worden naar de aanwezigheid van een PNH kloon. De frequentie waarbij dit onderzoek herhaald moet worden is gebaseerd op expert opinie en in lijn met de recente Britse “Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia”(1).

Hoewel er aanwijzingen zijn in de literatuur dat patiënten met aplastische anemie en een PNH kloon beter reageren op behandeling met IST dan patiënten met aplastische anemie zonder PNH kloon, is er op dit moment naar mening van de werkgroep geen reden om deze patiëntengroepen anders te behandelen.

Ziekte specifieke behandeling tweede lijn

Uitgangsvraag

Wat is een geschikte tweede lijn behandeling in geval van refractaire ziekte na eerdere behandeling met ATGAM in combinatie met ciclosporine?

Aanbevelingen

- Bij patiënten met een lage transfusie-frequentie en neutrofiële granulocyten $> 0.5 \times 10^9/l$ of bij patiënten met veel co-morbiditeit kan worden overwogen verder herstel van het bloedbeeld af te wachten onder continueren van de ciclosporine.
- Bij patiënten die 6 maanden na start van de IST bestaande uit ATGAM en ciclosporine nog altijd aan de criteria voor ernstige aplastische anemie voldoen dient een volgende lijn behandeling sterk te worden overwogen vanwege de aanzienlijke kans op met name infectieuze complicaties.
- Tweede lijn behandeling kan bestaan uit een alloHSCT, een kuur met konijn-ATG (Thymoglobuline) in combinatie met ciclosporine of uit eltrombopag.
- In individuele gevallen kan danazol of alemtuzumab worden overwogen.
- Er is geen plaats voor cyclofosfamide in de behandeling van refractaire aplastische anemie.

Onderbouwing

Inleiding

Indien een patiënt 6 maanden na IST bestaande uit ATGAM in combinatie met ciclosporine niet voldoet aan de criteria voor een respons (transfusie onafhankelijk en granulocyten aantal $> 0.5 \times 10^9/l$) kunnen verschillende mogelijkheden worden overwogen. Als de transfusie-behoefte is afgenomen en het aantal granulocyten $> 0.5 \times 10^9/l$ is in afwezigheid van infectieuze complicaties, kan er besloten worden de ciclosporine te continueren en verder herstel van het bloedbeeld af te wachten. Echter, bij patiënten met een (zeer) ernstige aplastische anemie is het in geval van afwezige respons 6 maanden na start van de IST van belang om zo snel mogelijk een passende tweede lijn behandeling te starten vanwege de aanzienlijke infectieuze mortaliteit in deze patiëntencategorie. Hierbij kan een keuze gemaakt worden tussen een alloHSCT, IST op basis van Thymoglobuline (indien de eerste kuur ATGAM betrof) of eltrombopag. Mogelijk is er ook een plaats voor danazol of alemtuzumab als tweede lijn behandeling.

Conclusie	SORT grade
Onder continueren van ciclosporine kan in sommige gevallen na een behandelduur langer dan 6 maanden alsnog transfusieonafhankelijkheid optreden (NVvH bestand, ongepubliceerde data)	C
Respons na tweede lijn behandeling met konijn-ATG in geval van refractaire ziekte na eerste lijn behandeling met ATGAM is 30%. (86, 87)	B
Na tweede lijn behandeling met eltrombopag treedt bij 40% van de patiënten verbetering op in minimaal 1 cellijn (71).	B
Respons na tweede lijn behandeling met alemtuzumab is 37% (86)	B
Danazol kan in een minderheid van de refractaire patiënten leiden tot een respons (70)	C
Cyclofosfamide als tweede lijn behandeling heeft een responspercentage van 48% na een mediane duur van 11 maanden (88)	B
Behandeling met cyclofosfamide is geassocieerd met hogere incidentie van mortaliteit kort na behandeling en het optreden van ernstige fungale infecties (88-90)	B

Samenvatting literatuur

Resultaten

Continueren ciclosporine

Uit een analyse van de in mei 2017 beschikbare gegevens in het NVvH register blijkt dat bij 5 van de 10 patiënten alsnog transfusieonafhankelijkheid optrad na continueren van de ciclosporine langer dan 6 maanden. De reden om af te zien van tweede lijn IST was een lage transfusiefrequentie of slechte performancestatus. Transfusieonafhankelijkheid trad in 1 geval nog 18 maanden na start van de ATGAM met ciclosporine op (NVvH register, ongepubliceerde data).

Tweede kuur met ATG

In geval van refractaire ziekte na ATGAM kan tweede lijn IST met Thymoglobuline (konijn-ATG) in 30% van de gevallen alsnog tot een respons leiden (86, 87). Een derde

behandeling met ATG is in geval van refractaire ziekte na twee eerdere cycli met ATG niet zinvol gebleken (91). Indien als tweede lijn konijn-ATG wordt gebruikt in geval van een recidief ziekte na eerdere respons op ATGAM is de kans op respons ongeveer 65% (87). Er is niets bekend over de effectiviteit van een tweede ATGAM kuur indien er geen respons was na een eerste kuur. Daarom adviseert de werkgroep dit niet.

Eltrombopag

In een prospectieve studie werden 43 patiënten met refractaire aplastische anemie na minimaal 1 lijn ATG-bevattende therapie behandeld met eltrombopag (71). De mediane tijd tussen de laatste lijn behandeling en de start van eltrombopag was 9 maanden. Vier maanden na het starten van de eltrombopag trad een verbetering op in minimaal 1 cellijn bij 40% van de patiënten. Negen patiënten (21%) werden transfusie onafhankelijk en voldeden niet meer aan de criteria voor een ernstige aplastische anemie. Bij een deel van deze patiënten kon de eltrombopag gestaakt worden met behoud van respons. Acht van de 43 patiënten ontwikkelden cytogenetische afwijkingen gedurende de behandeling met eltrombopag (71). Een recente studie toont aan dat na toevoegen van eltrombopag aan eerste lijn behandeling met ATGAM en ciclosporine de incidentie van cytogenetische afwijkingen na 2 jaar gelijk is aan de incidentie van cytogenetische afwijkingen 2 jaar na behandeling met ATGAM en ciclosporine alleen (~8%)(60). Een lagere startdoserings (25 mg per dag) is aanbevolen bij patiënten van Aziatische afkomst vanwege de grotere kans op toxiciteit als gevolg van tragere afbraak van eltrombopag (92).

Alemtuzumab:

In een studie van de NIH werden patiënten met refractaire aplastische anemie na eerdere behandeling met paard-ATG in combinatie met ciclosporine gerandomiseerd voor behandeling met Thymoglobuline in combinatie met ciclosporine of voor behandeling met monotherapie alemtuzumab (86). Het responspercentage 6 maanden na behandeling met alemtuzumab was 37% (n=27). De studie werd voortijdig beëindigd omdat er in een interim-analyse geen verschil was in het responspercentage tussen de Thymoglobuline-arm en de alemtuzumab-arm (86). Bij patiënten die een relapse hadden na een eerdere respons na behandeling met paard-ATG trad bij 56% een respons op na tweede lijn behandeling met alemtuzumab (86). In een studie van de EBMT werden 8 patiënten met refractaire ziekte behandeld met alemtuzumab in combinatie met ciclosporine. Bij 3 patiënten trad een partiële respons op (93).

Danazol:

In een prospectieve studie in Japan werden 13 patiënten die refractair waren na eerdere behandeling met ATG in combinatie met ciclosporine of na ciclosporine monotherapie behandeld met 300 mg danazol per dag gedurende 12 weken (70). Alle patiënten voltooiden deze therapie zonder ernstige complicaties. Bij slechts 3 patiënten trad transfusieonafhankelijkheid op (70). In een expert opinion wordt beschreven dat combinatie therapie Danazol en ciclosporine de kans op respons verhoogt (94)

Cyclofosfamide:

In een prospectieve cohortstudie werden 23 patiënten met refractaire aplastische anemie na ATG behandeling of na ciclosporine monotherapie behandeld met 50 mg/kg/dag cyclofosfamide gedurende 4 dagen (88). Na een mediane duur van 11 maanden bereikte 48% een hematologische respons. Van de 23 patiënten ontwikkelden 10 een ernstige fungale infectie, waarvan 5 met fatale uitkomst (88). Een gerandomiseerde trial voor eerste lijn behandeling van ernstige aplastische anemie waarin patiënten werden behandeld met cyclofosfamide in combinatie met ciclosporine of ATG in combinatie met ciclosporine werd vroegtijdig afgebroken vanwege onacceptabele toxiciteit in de cyclofosfamide-arm (89).

Zoekverantwoording

Database	Zoektermen	Datum	Aantal hits
Pubmed	"Anemia, Aplastic"[Mesh] AND refractory AND treatment	23-06-2017	393
Pubmed	"Anemia, Aplastic"[Mesh] AND "Salvage Therapy"[Mesh]	23-06-2017	49

Evidence tabel Tweede lijn IST

Studie	Type onderzoek	patiënten-aantal en kenmerken	interventie	Relevante uitkomsten	Opmerkingen Kwaliteitsbeoordeling
Scheinberg Br Haematol 2006	1 centrum Retrospectief, 2000-2005 Verenigde staten	22 SAA; refractair na paard-ATG en ciclosporine Mediane leeftijd: 31 (8-66) 21 SAA; relapse na paard-ATG en ciclosporine Mediane leeftijd: 42 (8-75 jaar)	3,5 mg/kg/dag Thymoglobuline iv gedurende 5 dagen in combinatie met ciclosporine	refractaire patiënten: ORR 6 maanden = 27% patiënten na relapse: ORR 6 maanden = 66%	Niveau B
Scheinberg Blood 2012	1 centrum Gerandomiseerd, 2003-2010 Verenigde staten	54 SAA; refractair na paard-ATG en ciclosporine Mediane leeftijd: 40	27 patiënten: 3,5 mg/kg/dag Thymoglobuline iv gedurende 5 dagen in combinatie met ciclosporine 27 patiënten: Alemtuzumab 10mg/dag iv gedurende 10 dagen	Thymoglobulin ORR 6 maanden = 33% Alemtuzumab ORR 6 maanden = 37% NB: alemtuzumab na relapse ORR = 55%	Niveau B
Desmond Blood 2014	1 centrum Prospectief 2009-2013 Verenigde Staten	43 SAA; refractair 6 maanden na minimaal 1 ATG-based behandeling Mediane leeftijd:44 (17-77)	Startdosis eltrombopag 50 mg/dag, per twee weken ophogen met 25 mg indien trombocyten niet >20 zijn gestegen tot maximaal 150 mg/dag	ORR na 4 maanden: 40% waarbij verbetering in minimaal 1 celtype 21% transfusieonafhankelijk	Clonale evolutie in 8/43 patiënten Niveau B
Chuhjo Am Hematol	5 centra Prospectief, 2000-2004 Japan	13 refractair na ATG en in combinatie met ciclosporine of na ciclosporine monotherapie 3 relapse na eerdere ATG/ciclosporine behandeling	Danazol: 300 mg/dag gedurende 12 weken	ORR na 4 maanden: Transfusie-onafhankelijk: 3/16 Minder transfusies:2/16	Voornameijk patiënten met niet-ernstige aplastische anemie Niveau C
Brodsky Blood 2010	1 centrum Prospectief 1996-2004 Verenigde staten	23 SAA; waarvan 21 refractair na ATG in combinatie met ciclosporine en 2 refractair na ciclosporine monotherapie Mediane leeftijd 34 (6-63 jaar)	Cyclofosfamide: 50 mg/kg iv gedurende 4 dagen	48% heeft een respons na een mediane duur van 11 maanden 44% ontwikkelt ernstige schimmelinfectie	Veel toxiciteit Niveau B

SAA = severe aplastic anemia, ORR = Overall response rate

Overwegingen

Op basis van de beschikbare literatuur en expert opinies concludeert de werkgroep dat in geval van refractaire aplastische anemie 6 maanden na ATGAM in combinatie met ciclosporine een passende vervolg behandeling dient te worden gegeven. In geval van ernstige neutropenie of hoge transfusie behoefte is het advies om zonder vertraging te behandelen met een alloHSCT, een kuur met konijn-ATG of eltrombopag. Wanneer er geen of milde neutropenie bestaat en de transfusiefrequentie laag is, kan worden overwogen het beloop af te wachten onder continueren van de ciclosporine en eventueel in een later stadium tweede lijn behandeling met konijn-ATG of eltrombopag te starten. Bij de keuze voor één van de behandel mogelijkheden als tweede lijn behandeling dient altijd de performancestatus van de patiënt te worden meegewogen.

Er zijn geen studies bekend die continueren van de ciclosporine in geval van refractaire ziekte beschrijven. Op basis van de tot nu toe beschikbare gegevens in het NVvH bestand is de werkgroep van mening dat in geval van lage transfusiefrequentie of slechte performancestatus het continueren van de ciclosporine te overwegen is omdat dit in enkele gevallen alsnog tot transfusieonafhankelijkheid kan leiden (NVvH register voor aplastische anemie, ongepubliceerde data). Het is niet duidelijk of verbetering van het bloedbeeld lange tijd na start van de behandeling een causaal verband heeft met de gegeven ATG, of dat een dergelijke verbetering gezien moet worden in het kader van het natuurlijke beloop van de ziekte.

Twee studies tonen een respons van ongeveer 30% na tweede lijn behandeling met Thymoglobuline (konijn-ATG) in combinatie met ciclosporine (86, 87). De werkgroep adviseert in geval van een tweede lijn behandeling met ATG te behandelen met Thymoglobuline vanwege mogelijke aanwezigheid van anti-paard-ATG antistoffen na eerder behandeling met ATGAM. Een nadeel van Thymoglobuline kan zijn dat er anti-konijn-ATG antistoffen kunnen ontstaan. De aanwezigheid van anti-konijn-ATG antistoffen vergroot de kans op serumziekte, acute graft-versus-host reactie en transplantaatfalen wanneer patiënten als volgende lijn behandeling een alloHSCT ondergaan met Thymoglobuline als onderdeel van het conditioneringsschema (95).

Eltrombopag is recent geregistreerd voor patiënten met aplastische anemie die refractair zijn op eerdere IST en die niet in aanmerking komen voor een alloHSCT. Een punt van zorg is het beschreven risico op het ontwikkelen van cytogenetische afwijkingen tijdens het gebruik van eltrombopag(71). Het is echter onvoldoende duidelijk of de cytogenetische afwijkingen ontstonden als gevolg van de aplastische anemie of als gevolg van de eltrombopag. Een recente studie waarbij eltrombopag werd toegevoegd aan eerste lijn behandeling met ATGAM en ciclosporine toonde gedurende de beschikbare follow-up duur van 2 jaar geen verhoogde incidentie van cytogenetische afwijkingen (60). Langere follow-up van de patiënten uit deze studie

en de gegevens uit de nog lopende Europese RACE-trial (*NCT02099747*) zullen in de toekomst meer duidelijkheid geven over het risico op cytogenetische afwijkingen als gevolg van eltrombopag.

Hoewel alemtuzumab niet wordt aanbevolen als eerste lijn behandeling vanwege het lage respons-percentage van 19% (86), kan alemtuzumab wel worden overwogen als alternatieve IST bij refractaire aplastische anemie. Voor sommige patiënten kan een voordeel van behandeling met alemtuzumab zijn dat deze behandeling niet gecombineerd hoeft te worden met langdurig ciclosporine. Een nadeel is echter dat door langdurige lymfopenie de kans op infecties groter is. Behandeling van refractaire aplastische anemie met alemtuzumab dient op individuele basis te worden overwogen.

Er zijn aanwijzingen dat Danazol (synthetisch androgeen) kan leiden tot verhoogde telomerase activiteit en daarmee verlenging van telomeren in patiënten met telomeerziekte (96). Een kleine studie naar het gebruik van Danazol bij refractaire aplastische anemie leidde in slechts een minderheid van de gevallen tot transfusieonafhankelijkheid. Bovendien betrof het hier voornamelijk patiënten met niet-ernstige aplastische anemie (70). De werkgroep is derhalve van mening dat behandeling met androgenen alleen te overwegen is bij patiënten die andere tweede lijn behandeling niet verdragen.

Meerdere studies beschrijven een hogere incidentie van ernstige fungale infecties als gevolg van de langdurige neutropenie en meer vroege mortaliteit na behandeling met cyclofosfamide (88-90). Om die reden raadt de werkgroep, ondanks het responspercentage van bijna 50%, het gebruik van cyclofosfamide in zowel eerste als tweede lijn behandeling af.

Tenslotte is uit meerdere studies gebleken dat een derde lijn met immuunsuppressieve therapie (paard-ATG, konijn-ATG, alemtuzumab) niet tot een additionele respons leidt (86, 91).

Allogene stamceltransplantatie als tweede lijn behandeling

Bij patiënten met een zeer ernstige aplastische anemie die zes maanden na IST geen tekenen van herstel hebben kan een alloHSCT tot snel herstel van het neutrofielen aantal leiden. Als stamcel bron kan een verwante donor gebruikt worden (bij oudere patiënten die niet voor eerste lijn alloSCT in aanmerking kwamen), een onverwante donor, een navelstrengtransplantaat of een haplo-identieke donor. Aangezien de infectieuze mortaliteit met name vanaf 7 maanden na falen van eerste lijn IST toeneemt lijkt het van belang om de transplantatie ook daadwerkelijk 6 maanden na start behandeling plaats te laten vinden. Bij de afwegingen om deze patiënten met ernstige aplastische anemie een alloHSCT aan te bieden zullen ernst van de ziekte en biologische leeftijd een belangrijke rol moeten spelen. Recent toonde een retrospectieve analyse van de EBMT Working Party dat bij patiënten >50 jaar de leeftijd op zich geen voorspellende waarde heeft voor de overleving na alloHSCT (97).

Conditionering bij jonge patiënten met een onverwante donor

Er bestaat geen standaardschema voor jongere patiënten die een alloHSCT van een onverwante donor krijgen. Een goede optie is het toevoegen van 2 Gy TBI (of 2 x 2 Gy in geval van een gemismatchte onverwante donor) op dag -1 aan het schema dat bij jonge patiënten met een verwante donor wordt gebruikt (34). Bij ontbreken van een volledig gematchte onverwante donor kan een gemismatchte donor (9/10) worden overwogen, echter gaat dit samen met een duidelijk verhoogd risico op GvHD (*zie hiervoor ook het consensus document selectie onverwante donor van de HLA werkgroep*). Bij ontbreken van een 10/10 gematchte onverwante donor kan ook de keus gemaakt worden om van een haplo-identieke donor of navelstrengbloed gebruik te maken. In dat geval moet met een significant verhoogde kans op transplantaatfalen rekening worden gehouden. Al met al zijn er op dit moment onvoldoende gegevens beschikbaar om een specifieke voorkeur uit te spreken voor een alternatieve donor (9/10 mismatched MUD, haploidentiek, navelstrengbloed) (98)

Conditionering bij oudere patiënten met een (on)verwante donor

Er bestaat geen standaardschema voor oudere patiënten die een alloHSCT van een (on)verwante donor krijgen. In de richtlijn versie 2013 werd in deze situatie het schema geadviseerd bestaande uit fludarabine, cyclofosfamide, ATG (en TBI bij een onverwante donor) (fludarabine 30 mg/m² dag -5 t/m -2, cyclofosfamide 50 mg/kg dag -3 t/m -2 en thymoglobuline 3.75 mg/kg dag -3 en -2 (met TBI 2 Gy dag -1 bij een onverwante donor) gecombineerd met medicamenteuze GvHD profylaxe bestaande uit ciclosporine en MTX. In de praktijk werd met dit schema in Nederland veel ernstige directe toxiciteit gezien. Bij veel centra bestaat op grond van de ervaren toxiciteit nu de sterke voorkeur om het vroeger veel gebruikte schema toe te passen, bestaande uit ATG, fludarabine, TBI (Thymoglobuline 2 mg/kg dag -8 t/m dag -5, fludarabine 30 mg/m² dag -4 t/m dag -2, TBI 2 Gy dag -1) gecombineerd met medicamenteuze GvHD profylaxe bestaande uit ciclosporine en mycofenolaatmofetil. Een alternatief is een

alloHSCT met T cel depletie waarna slechts een korte periode of helemaal geen GvHD profylaxe gegeven hoeft te worden. In het algemeen geldt dat de overleving bij oudere patiënten die als tweede lijn behandeling een alloHSCT krijgen onder de 50% ligt (*ongepubliceerde gegevens NVvH register aplastische anemie*).

Referenties gehele richtlijn

1. Killick SB, Bown N, Cavenagh J, Dokal I, Foukaneli T, Hill A, et al. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia. *British journal of haematology*. 2016;172(2):187-207.
2. Calado RT, Cooper JN, Padilla-Nash HM, Sloand EM, Wu CO, Scheinberg P, et al. Short telomeres result in chromosomal instability in hematopoietic cells and precede malignant evolution in human aplastic anemia. *Leukemia*. 2012;26(4):700-7.
3. Scheinberg P, Cooper JN, Sloand EM, Wu CO, Calado RT, Young NS. Association of telomere length of peripheral blood leukocytes with hematopoietic relapse, malignant transformation, and survival in severe aplastic anemia. *Jama*. 2010;304(12):1358-64.
4. Scheinberg P, Wu CO, Nunez O, Young NS. Predicting response to immunosuppressive therapy and survival in severe aplastic anaemia. *British journal of haematology*. 2009;144(2):206-16.
5. Scheinberg P, Marte M, Nunez O, Young NS. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in severe aplastic anemia patients treated with horse anti-thymocyte globulin plus cyclosporine. *Haematologica*. 2010;95(7):1075-80.
6. Dokal I. Dyskeratosis congenita. *Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2011;2011:480-6.
7. Soulier J. Fanconi anemia. *Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2011;2011:492-7.
8. Rauff B, Idrees M, Shah SA, Butt S, Butt AM, Ali L, et al. Hepatitis associated aplastic anemia: a review. *Virology journal*. 2011;8:87.
9. Pagliuca S, Gerard L, Kulasekararaj A, Eapen M, Boutboul D, Martin H, et al. Characteristics and outcomes of aplastic anemia in HIV patients: a brief report from the severe aplastic anemia working party of the European Society of Blood and Bone Marrow Transplantation. *Bone marrow transplantation*. 2016;51(2):313-5.
10. Fenga C, Gangemi S, Costa C. Benzene exposure is associated with epigenetic changes (Review). *Molecular medicine reports*. 2016;13(4):3401-5.
11. Santiago F, Alves G, Otero UB, Tabalipa MM, Scherrer LR, Kosyakova N, et al. Monitoring of gas station attendants exposure to benzene, toluene, xylene (BTX) using three-color chromosome painting. *Molecular cytogenetics*. 2014;7(1):15.
12. Kim SY, Lee JW, Lee SE, Cho BS, Kim M, Eom KS, et al. The characteristics and clinical outcome of adult patients with aplastic anemia and abnormal cytogenetics at diagnosis. *Genes, chromosomes & cancer*. 2010;49(9):844-50.
13. Keel SB, Scott A, Sanchez-Bonilla M, Ho PA, Gulsuner S, Pritchard CC, et al. Genetic features of myelodysplastic syndrome and aplastic anemia in pediatric and young adult patients. *Haematologica*. 2016;101(11):1343-50.
14. Medinger M, Buser A, Stern M, Heim D, Halter J, Rovo A, et al. Aplastic anemia in association with a lymphoproliferative neoplasm: coincidence or causality? *Leukemia research*. 2012;36(2):250-1.
15. Deng XZ, Du M, Peng J, Long JX, Zheng CJ, Tan Y, et al. Associations between the HLA-A/B/DRB1 polymorphisms and aplastic anemia: evidence from 17 case-control studies. *Hematology (Amsterdam, Netherlands)*. 2017:1-9.
16. Sugimori C, Yamazaki H, Feng X, Mochizuki K, Kondo Y, Takami A, et al. Roles of DRB1 *1501 and DRB1 *1502 in the pathogenesis of aplastic anemia. *Experimental hematology*. 2007;35(1):13-20.
17. Schneider M, Chandler K, Tischkowitz M, Meyer S. Fanconi anaemia: genetics, molecular biology, and cancer - implications for clinical management in children and adults. *Clinical genetics*. 2015;88(1):13-24.
18. J. Rozenberg CJMH, M.H.G.P. Raaijmakers. Telomeropathy as cause of bone marrow failure in adults. *Ned Tijdsch hematol*. 2018;15(Jul):203-7.
19. Messiaen PE, Cuyx S, Dejagere T, van der Hilst JC. The role of CD4 cell count as discriminatory measure to guide chemoprophylaxis against *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in human

immunodeficiency virus-negative immunocompromised patients: A systematic review. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*. 2017;19(2).

20. Tichelli A, Schrezenmeier H, Socie G, Marsh J, Bacigalupo A, Duhren U, et al. 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(17):4434-41.

21. Passweg JR, Aljurf M. Treatment and hematopoietic SCT in aplastic anemia. *Bone marrow transplantation*. 2013;48(2):161.

22. Scheinberg P, Young NS. How I treat acquired aplastic anemia. *Blood*. 2012;120(6):1185-96.

23. Tjon JM, de Groot MR, Sytkens Smit SM, de Wreede LC, Srijders TJ, Koene HR, et al. Short-term efficacy and safety of antithymocyte globulin treatment in elderly patients with acquired aplastic anaemia. *British journal of haematology*. 2016.

24. Peinemann F, Smith LA, Bartel C. Autologous hematopoietic stem cell transplantation following high dose chemotherapy for non-rhabdomyosarcoma soft tissue sarcomas. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2013(8):Cd008216.

25. Locasciulli A, Oneto R, Bacigalupo A, Socie G, Korthof E, Bekassy A, et al. 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;92(1):11-8.

26. Bacigalupo A, Socie G, Hamladji RM, Aljurf M, Maschan A, Kyrz-Krzemien S, et al. Current outcome of HLA identical sibling versus unrelated donor transplants in severe aplastic anemia: an EBMT analysis. *Haematologica*. 2015;100(5):696-702.

27. Kahl C, Leisenring W, Deeg HJ, Chauncey TR, Flowers ME, Martin PJ, et al. Cyclophosphamide and antithymocyte globulin as a conditioning regimen for allogeneic marrow transplantation in patients with aplastic anaemia: a long-term follow-up. *British journal of haematology*. 2005;130(5):747-51.

28. Storb R, Blume KG, O'Donnell MR, Chauncey T, Forman SJ, Deeg HJ, et al. Cyclophosphamide and antithymocyte globulin to condition patients with aplastic anemia for allogeneic marrow transplantations: the experience in four centers. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2001;7(1):39-44.

29. Storb R, Leisenring W, Anasetti C, Appelbaum FR, Buckner CD, Bensinger WI, et al. Long-term follow-up of allogeneic marrow transplants in patients with aplastic anemia conditioned by cyclophosphamide combined with antithymocyte globulin. *Blood*. 1997;89(10):3890-1.

30. Sureda A, Bader P, Cesaro S, Dreger P, Duarte RF, Dufour C, et al. Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2015. *Bone marrow transplantation*. 2015;50(8):1037-56.

31. Champlin RE, Perez WS, Passweg JR, Klein JP, Camitta BM, Gluckman E, et al. Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: a randomized controlled study of conditioning regimens. *Blood*. 2007;109(10):4582-5.

32. Atta EH, de Sousa AM, Schirmer MR, Bouzas LF, Nucci M, Abdelhay E. Different outcomes between cyclophosphamide plus horse or rabbit antithymocyte globulin for HLA-identical sibling bone marrow transplant in severe aplastic anemia. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2012;18(12):1876-82.

33. Sangiolo D, Storb R, Deeg HJ, Flowers ME, Martin PJ, Sandmaier BM, et al. Outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation from HLA-identical siblings for severe aplastic anemia in patients over 40 years of age. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2010;16(10):1411-8.

34. Deeg HJ, O'Donnell M, Tolar J, Agarwal R, Harris RE, Feig SA, et al. Optimization of conditioning for marrow transplantation from unrelated donors for patients with aplastic anemia after failure of immunosuppressive therapy. *Blood*. 2006;108(5):1485-91.

35. Locatelli F, Bruno B, Zecca M, Van-Lint MT, McCann S, Arcese W, et al. 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(5):1690-7.
36. Marsh JC, Gupta V, Lim Z, Ho AY, Ireland RM, Hayden J, et al. Alemtuzumab with fludarabine and cyclophosphamide reduces chronic graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation for acquired aplastic anemia. *Blood*. 2011;118(8):2351-7.
37. Hamad N, Del Bel R, Messner HA, Kim D, Kuruvilla J, Lipton JH, et al. Outcomes of hematopoietic cell transplantation in adult patients with acquired aplastic anemia using intermediate-dose alemtuzumab-based conditioning. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2014;20(11):1722-8.
38. Eapen M, Le Rademacher J, Antin JH, Champlin RE, Carreras J, Fay J, et al. Effect of stem cell source on outcomes after unrelated donor transplantation in severe aplastic anemia. *Blood*. 2011;118(9):2618-21.
39. Chu R, Brazauskas R, Kan F, Bashey A, Bredeson C, Camitta B, et al. 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. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2011;17(7):1018-24.
40. Schrezenmeier H, Passweg JR, Marsh JC, Bacigalupo A, Bredeson CN, Bullorsky E, et al. Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia. *Blood*. 2007;110(4):1397-400.
41. Bacigalupo A, Socie G, Schrezenmeier H, Tichelli A, Locasciulli A, Fuehrer M, et al. Bone marrow versus peripheral blood as the stem cell source for sibling transplants in acquired aplastic anemia: survival advantage for bone marrow in all age groups. *Haematologica*. 2012;97(8):1142-8.
42. Rosenfeld S, Follmann D, Nunez O, Young NS. Antithymocyte globulin and cyclosporine for severe aplastic anemia: association between hematologic response and long-term outcome. *Jama*. 2003;289(9):1130-5.
43. Scheinberg P, Nunez O, Weinstein B, Scheinberg P, Biancotto A, Wu CO, et al. Horse versus rabbit antithymocyte globulin in acquired aplastic anemia. *The New England journal of medicine*. 2011;365(5):430-8.
44. Scheinberg P, Wu CO, Nunez O, Scheinberg P, Boss C, Sloand EM, et al. Treatment of severe aplastic anemia with a combination of horse antithymocyte globulin and cyclosporine, with or without sirolimus: a prospective randomized study. *Haematologica*. 2009;94(3):348-54.
45. Champlin R, Ho W, Gale RP. Antithymocyte globulin treatment in patients with aplastic anemia: a prospective randomized trial. *The New England journal of medicine*. 1983;308(3):113-8.
46. Afable MG, 2nd, Shaik M, Sugimoto Y, Elson P, Clemente M, Makishima H, et al. Efficacy of rabbit anti-thymocyte globulin in severe aplastic anemia. *Haematologica*. 2011;96(9):1269-75.
47. Marsh JC, Bacigalupo A, Schrezenmeier H, Tichelli A, Risitano AM, Passweg JR, et al. Prospective study of rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine for aplastic anemia from the EBMT Severe Aplastic Anaemia Working Party. *Blood*. 2012;119(23):5391-6.
48. Kadia TM, Borthakur G, Garcia-Manero G, Faderl S, Jabbour E, Estrov Z, et al. Final results of the phase II study of rabbit anti-thymocyte globulin, ciclosporin, methylprednisone, and granulocyte colony-stimulating factor in patients with aplastic anaemia and myelodysplastic syndrome. *British journal of haematology*. 2012;157(3):312-20.
49. Atta EH, Dias DS, Marra VL, de Azevedo AM. Comparison between horse and rabbit antithymocyte globulin as first-line treatment for patients with severe aplastic anemia: a single-center retrospective study. *Annals of hematology*. 2010;89(9):851-9.
50. Shin SH, Yoon JH, Yahng SA, Lee SE, Cho BS, Eom KS, et al. 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. *Annals of hematology*. 2013;92(6):817-24.

51. Song MK, Chung JS, Joo YD, Lee GW, Hong J, Park SH, et al. Early intensified intravenous cyclosporine therapy predicts favorable response to immunosuppressive therapy with rabbit antithymocyte globulin in patients with severe aplastic anemia. *Leukemia research*. 2015;39(3):284-9.

52. Vallejo C, Montesinos P, Polo M, Cuevas B, Morado M, Rosell A, et al. Rabbit antithymocyte globulin versus horse antithymocyte globulin for treatment of acquired aplastic anemia: a retrospective analysis. *Annals of hematology*. 2015;94(6):947-54.

53. Zhang L, Jing L, Zhou K, Wang H, Peng G, Li Y, et al. Rabbit antithymocyte globulin as first-line therapy for severe aplastic anemia. *Experimental hematology*. 2015;43(4):286-94.

54. Liu L, Ding L, Hao L, Zhang X, Li X, Zhang L, et al. Efficacy of porcine antihuman lymphocyte immunoglobulin compared to rabbit antithymocyte immunoglobulin as a first-line treatment against acquired severe aplastic anemia. *Annals of hematology*. 2015;94(5):729-37.

55. Li X, Shi J, Ge M, Shao Y, Huang J, Huang Z, et al. Outcomes of optimized over standard protocol of rabbit antithymocyte globulin for severe aplastic anemia: a single-center experience. *PloS one*. 2013;8(3):e56648.

56. Suzuki T, Kobayashi H, Kawasaki Y, Okazuka K, Hatano K, Fujiwara S, et al. Efficacy of combination therapy with anti-thymocyte globulin and cyclosporine A as a first-line treatment in adult patients with aplastic anemia: a comparison of rabbit and horse formulations. *International journal of hematology*. 2016;104(4):446-53.

57. Chuncharunee S, Wong R, Rojnuckarin P, Chang CS, Chang KM, Lu MY, et al. Efficacy of rabbit antithymocyte globulin as first-line treatment of severe aplastic anemia: an Asian multicenter retrospective study. *International journal of hematology*. 2016;104(4):454-61.

58. Saracco P, Quarello P, Iori AP, Zecca M, Longoni D, Svahn J, et al. Cyclosporin A response and dependence in children with acquired aplastic anaemia: a multicentre retrospective study with long-term observation follow-up. *British journal of haematology*. 2008;140(2):197-205.

59. Scheinberg P, Rios O, Scheinberg P, Weinstein B, Wu CO, Young NS. Prolonged cyclosporine administration after antithymocyte globulin delays but does not prevent relapse in severe aplastic anemia. *American journal of hematology*. 2014;89(6):571-4.

60. Townsley DM, Scheinberg P, Winkler T, Desmond R, Dumitriu B, Rios O, et al. Eltrombopag Added to Standard Immunosuppression for Aplastic Anemia. *The New England journal of medicine*. 2017;376(16):1540-50.

61. Tichelli A, Socie G, Henry-Amar M, Marsh J, Passweg J, Schrezenmeier H, et al. Effectiveness of immunosuppressive therapy in older patients with aplastic anemia. European Group for Blood and Marrow Transplantation Severe Aplastic Anaemia Working Party. *Annals of internal medicine*. 1999;130(3):193-201.

62. Kao SY, Xu W, Brandwein JM, Lipton JH, Messner HA, Minden MD, et al. Outcomes of older patients (> or = 60 years) with acquired aplastic anaemia treated with immunosuppressive therapy. *British journal of haematology*. 2008;143(5):738-43.

63. Marsh J, Schrezenmeier H, Marin P, Ilhan O, Ljungman P, McCann S, et al. Prospective randomized multicenter study comparing cyclosporin alone versus the combination of antithymocyte globulin and cyclosporin for treatment of patients with nonsevere aplastic anemia: a report from the European Blood and Marrow Transplant (EBMT) Severe Aplastic Anaemia Working Party. *Blood*. 1999;93(7):2191-5.

64. Killick SB, Cavenagh JD, Davies JK, Marsh JC. Low dose antithymocyte globulin for the treatment of older patients with aplastic anaemia. *Leukemia research*. 2006;30(12):1517-20.

65. Scott A, Morris K, Butler J, Mills AK, Kennedy GA. Treatment of aplastic anaemia with lower-dose anti-thymocyte globulin produces similar response rates and survival as per standard dose anti-thymocyte globulin schedules. *Internal medicine journal*. 2016;46(10):1198-203.

66. Calado RT, Yewdell WT, Wilkerson KL, Regal JA, Kajigaya S, Stratakis CA, et al. Sex hormones, acting on the TERT gene, increase telomerase activity in human primary hematopoietic cells. *Blood*. 2009;114(11):2236-43.
67. Ziegler P, Schrezenmeier H, Akkad J, Brassat U, Vankann L, Panse J, et al. Telomere elongation and clinical response to androgen treatment in a patient with aplastic anemia and a heterozygous hTERT gene mutation. *Annals of hematology*. 2012;91(7):1115-20.
68. Bar C, Huber N, Beier F, Blasco MA. Therapeutic effect of androgen therapy in a mouse model of aplastic anemia produced by short telomeres. *Haematologica*. 2015;100(10):1267-74.
69. Jaime-Perez JC, Colunga-Pedraza PR, Gomez-Ramirez CD, Gutierrez-Aguirre CH, Cantu-Rodriguez OG, Tarin-Arzaga LC, et al. Danazol as first-line therapy for aplastic anemia. *Annals of hematology*. 2011;90(5):523-7.
70. Chuhjo T, Yamazaki H, Omine M, Nakao S. Danazol therapy for aplastic anemia refractory to immunosuppressive therapy. *American journal of hematology*. 2008;83(5):387-9.
71. Desmond R, Townsley DM, Dumitriu B, Olnes MJ, Scheinberg P, Bevans M, et al. Eltrombopag restores trilineage hematopoiesis in refractory severe aplastic anemia that can be sustained on discontinuation of drug. *Blood*. 2014;123(12):1818-25.
72. Tichelli A, Socie G, Marsh J, Barge R, Frickhofen N, McCann S, et al. Outcome of pregnancy and disease course among women with aplastic anemia treated with immunosuppression. *Annals of internal medicine*. 2002;137(3):164-72.
73. McKay DB, Josephson MA. Pregnancy in recipients of solid organs--effects on mother and child. *The New England journal of medicine*. 2006;354(12):1281-93.
74. Afaible MG, 2nd, Tiu RV, Maciejewski JP. Clonal evolution in aplastic anemia. *Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2011;2011:90-5.
75. Frickhofen N, Heimpel H, Kaltwasser JP, Schrezenmeier H. Antithymocyte globulin with or without cyclosporin A: 11-year follow-up of a randomized trial comparing treatments of aplastic anemia. *Blood*. 2003;101(4):1236-42.
76. van der Hem JGK, de Wreede LC, Brand A, Veelken H, Falkenburg JHF, Halkes CJM. Long-term risk of cancer development in adult patients with idiopathic aplastic anemia after treatment with anti-thymocyte globulin. *Haematologica*. 2017;102(10):e382-e3.
77. Maciejewski JP, Risitano A, Sloand EM, Nunez O, Young NS. Distinct clinical outcomes for cytogenetic abnormalities evolving from aplastic anemia. *Blood*. 2002;99(9):3129-35.
78. Dunn DE, Tanawattanacharoen P, Bocconi P, Nagakura S, Green SW, Kirby MR, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells in patients with bone marrow failure syndromes. *Annals of internal medicine*. 1999;131(6):401-8.
79. Kulagin A, Lisukov I, Ivanova M, Golubovskaya I, Kruchkova I, Bondarenko S, et al. Prognostic value of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clone presence in aplastic anaemia patients treated with combined immunosuppression: results of two-centre prospective study. *British journal of haematology*. 2014;164(4):546-54.
80. Marsh JC, Mufti GJ. Clinical significance of acquired somatic mutations in aplastic anaemia. *International journal of hematology*. 2016;104(2):159-67.
81. Nakao S, Yamaguchi M, Takamatsu H, Shiobara S, Matusda T. Expansion of a paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) clone after cyclosporine therapy for aplastic anemia/PNH syndrome. *Blood*. 1992;80(11):2943-4.
82. Parker C, Omine M, Richards S, Nishimura J, Bessler M, Ware R, et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2005;106(12):3699-709.
83. De Lord C, Tooze JA, Saso R, Marsh JC, Gordon-Smith EC. Deficiency of glycosylphosphatidyl inositol-anchored proteins in patients with aplastic anaemia does not affect response to immunosuppressive therapy. *British journal of haematology*. 1998;101(1):90-3.
84. Schrezenmeier H, Hertenstein B, Wagner B, Raghavachar A, Heimpel H. A pathogenetic link between aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria is suggested by a high frequency

of aplastic anemia patients with a deficiency of phosphatidylinositol glycan anchored proteins. *Experimental hematology*. 1995;23(1):81-7.

85. Sugimori C, Chuhjo T, Feng X, Yamazaki H, Takami A, Teramura M, et al. Minor population of CD55-CD59- blood cells predicts response to immunosuppressive therapy and prognosis in patients with aplastic anemia. *Blood*. 2006;107(4):1308-14.

86. Scheinberg P, Nunez O, Weinstein B, Scheinberg P, Wu CO, Young NS. Activity of alemtuzumab monotherapy in treatment-naive, relapsed, and refractory severe acquired aplastic anemia. *Blood*. 2012;119(2):345-54.

87. Scheinberg P, Nunez O, Young NS. Retreatment with rabbit anti-thymocyte globulin and ciclosporin for patients with relapsed or refractory severe aplastic anaemia. *British journal of haematology*. 2006;133(6):622-7.

88. Brodsky RA, Chen AR, Brodsky I, Jones RJ. High-dose cyclophosphamide as salvage therapy for severe aplastic anemia. *Experimental hematology*. 2004;32(5):435-40.

89. Tisdale JF, Dunn DE, Geller N, Plante M, Nunez O, Dunbar CE, et al. High-dose cyclophosphamide in severe aplastic anaemia: a randomised trial. *Lancet (London, England)*. 2000;356(9241):1554-9.

90. Scheinberg P, Townsley D, Dumitriu B, Scheinberg P, Weinstein B, Daphtary M, et al. Moderate-dose cyclophosphamide for severe aplastic anemia has significant toxicity and does not prevent relapse and clonal evolution. *Blood*. 2014;124(18):2820-3.

91. Gupta V, Gordon-Smith EC, Cook G, Parker A, Duguid JK, Wilson KM, et al. A third course of anti-thymocyte globulin in aplastic anaemia is only beneficial in previous responders. *British journal of haematology*. 2005;129(1):110-7.

92. Gibiansky E, Zhang J, Williams D, Wang Z, Ouellet D. Population pharmacokinetics of eltrombopag in healthy subjects and patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Journal of clinical pharmacology*. 2011;51(6):842-56.

93. Risitano AM, Selleri C, Serio B, Torelli GF, Kulagin A, Maury S, et al. Alemtuzumab is safe and effective as immunosuppressive treatment for aplastic anaemia and single-lineage marrow failure: a pilot study and a survey from the EBMT WPSAA. *British journal of haematology*. 2010;148(5):791-6.

94. Bacigalupo A. How I treat acquired aplastic anemia. *Blood*. 2017;129(11):1428-36.

95. Jol-van der Zijde CM, Bredius RG, Jansen-Hoogendijk AM, Smiers FJ, Lankester AC, van Tol MJ. Antibodies to anti-thymocyte globulin in aplastic anemia patients have a negative impact on hematopoietic SCT. *Bone marrow transplantation*. 2012;47(9):1256-8.

96. Townsley DM, Dumitriu B, Liu D, Biancotto A, Weinstein B, Chen C, et al. Danazol Treatment for Telomere Diseases. *The New England journal of medicine*. 2016;374(20):1922-31.

97. Rice C, Eikema DJ, Marsh JCW, Knol C, Hebert K, Putter H, et al. Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Patients Aged 50 Years or Older with Severe Aplastic Anemia. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2018.

98. Peffault de Latour R, Chevret S, Jubert C, Sirvent A, Galambrun C, Ruggeri A, et al. Unrelated cord blood transplantation in patients with idiopathic refractory severe aplastic anemia: a nationwide phase 2 study. *Blood*. 2018;132(7):750-4.