

# Richtlijn ‘Diagnostiek en behandeling van verworven aplastische anemie bij volwassenen’

Dutch guidelines for the diagnosis and management of adults with acquired aplastic anemia

C. Huisman\*, M.R. de Groot, A.E.C. Broers, H. Koene, E.L. Meijer, M.R. Schaafsma, N.P.M. Schaap, H.C. Schouten, L.F. Verdonck, R.A.P. Rajmakers en C.J.M. Halkes\*

\* Namens de Werkgroep aplastische anemie van de Nederlandse Vereniging voor Hematologie

## Samenvatting

De werkgroep Aplastische Anemie van de Nederlandse Vereniging voor Hematologie heeft de richtlijn ‘Diagnostiek en behandeling van verworven aplastische anemie bij volwassenen’ opgesteld. Deze richtlijn is een document met aanbevelingen ter ondersteuning van de dagelijkse praktijkvoering, waar mogelijk berustend op de resultaten van wetenschappelijk onderzoek. In deze richtlijn wordt een antwoord geformuleerd op de volgende vragen:

1. Welke diagnostiek dient te worden ingezet bij verdenking op verworven aplastische anemie?
2. Hoe dienen de diagnostische parameters te worden geïnterpreteerd en wanneer is er een indicatie voor behandeling?
3. Wat is de meest geschikte eerstelijnsbehandeling bij patiënten met verworven aplastische anemie?
4. Wat zijn de mogelijkheden voor tweede- of derdeelijnsbehandeling bij falen op of recidief na eerstelijns therapie?

(*Ned Tijdschr Hematol* 2013;10:201-13)

## Summary

The Aplastic Anemia working party of the Dutch Society of Hematology has developed a national guideline for the diagnosis and treatment of adults with acquired aplastic anemia. This guideline aims to support health care professionals in the management of adults with this rare disease. Since the number of clinical studies on adults with acquired aplastic anemia is very limited, statements and recommendations are mainly based on review of the literature and expert or consensus opinion. This guideline aims to address the following questions:

1. Which investigations are required to confirm the diagnosis of acquired aplastic anemia and to exclude other causes of pancytopenia with a hypocellular bone marrow?
2. How to interpret diagnostic parameters and how to establish an indication for treatment?
3. What is the optimal first-line therapy for adults with acquired aplastic anemia?
4. What are the options for second- or third-line therapy after failure on or relapse after first-line therapy?

**Auteurs:** mw. dr. C. Huisman, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Academisch Medisch Centrum, dhr. dr. M.R. de Groot, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Universitair Medisch Centrum Groningen, mw. dr. A.E.C. Broers, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Erasmus Medisch Centrum, dhr. dr. H. Koene, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, St Antoniusziekenhuis Nieuwegein, mw. dr. E.L. Meijer, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, VU medisch centrum, dhr. dr. M.R. Schaafsma, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Medisch Spectrum Twente, dhr. dr. N.P.M. Schaap, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Universitair Medisch Centrum Nijmegen, dhr. prof. dr. H.C. Schouten, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Maastricht Universitair Medisch Centrum, dhr. dr. L.F. Verdonck, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Isala Klinieken Zwolle, dhr. dr. R.A.P. Rajmakers, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht, dhr. dr. C.J.M. Halkes, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Leids Universitair Medisch Centrum. Correspondentie graag richten aan mw. dr. C. Huisman, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Academisch Medisch Centrum Amsterdam, Meibergdreef 9, 1105 AZ Amsterdam, tel.: 020 566 57 85, e-mailadres: c.huisman@amc.uva.nl  
Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

**Trefwoorden:** immuunsuppressieve therapie, richtlijn, stamceltransplantatie, verworven aplastische anemie, volwassenen

**Key words:** acquired aplastic anemia, adults, guideline, immunosuppressive therapy, stem cell transplantation

## Inleiding

Verworven aplastische anemie is een zeldzaam ziektebeeld dat wordt gekenmerkt door een hypocellulair beenmerg en pancytopenie. Door de lage incidentie van de ziekte (ongeveer 2 per miljoen inwoners per jaar) is er slechts een beperkt aantal gerandomiseerde studies gedaan naar de optimale behandeling van verworven aplastische anemie. Voor de hier beschreven richtlijn van de Nederlandse Vereniging voor Hematologie (NVvH) is mede gebruik gemaakt van recentelijk uitgebrachte richtlijnen van de 'British Society of Hematology', de 'European Group for Blood and Marrow Transplantation' (EBMT) en het 'National Institute for Health'.<sup>1-3</sup> Deze richtlijnen zijn grotendeels gebaseerd op oudere resultaten en ervaringen. Om de effecten van de huidige intensieve en dure standaardbehandeling te evalueren, is het essentieel dat de resultaten van de behandeling van patiënten met verworven aplastische anemie landelijk worden verzameld. Hiertoe wordt onder verantwoordelijkheid van de NVvH een landelijke registratie van aplastische anemie ontwikkeld.

## Etiologie

- Idiopathisch (70-80%): er is een associatie met HLA-DRB1\*15 en auto-immuunziekten.
- Viraal geassocieerd (CMV, EBV, hiv, Parvovirus B19, HHV-6, hepatitis A, B, C, D, E, G; tevens seronegatieve hepatitis).
- Geneesmiddelen (klassiek: chlooramfenicol, fenytoïne).
- Chemicaliën/bestrijdingsmiddelen (benzeen).
- Zelden associatie met zwangerschap, SLE, thy-moom, eosinofiele fasciitis.

Bij de meerderheid van de patiënten met aplastische anemie kan geen oorzaak worden aangetoond. Immungemedieerde afbraak van hematopoëtische voorlopercellen wordt verondersteld ten grondslag te liggen aan het beenmergfalen. De trigger voor de afbraak van hematopoëtische voorlopercellen is onbekend. Immunosuppressieve behandeling (IST) leidt tot herstel van de hematopoëse bij 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 of gamma-delta-T-cellen is gesuggereerd.

Bij een klein deel van de patiënten met verworven aplastische anemie zijn verkorte telomeren aantoon-

baar, al dan niet in combinatie met mutaties in genen die een rol spelen bij het in stand houden van adequate telomeerlengte. In families kunnen hierbij ziektebeelden voorkomen die geassocieerd zijn met korte telomeren, zoals idiopathische levercirrose, longfibrose, beenmergfalen, acute myeloïde leukemie (AML) en myelodysplastisch syndroom (MDS). Deze entiteit wordt wel omschreven als telomeerziekte. Ook deze patiënten kunnen goed reageren op eerstelijns-immunosuppressieve behandeling, maar ontwikkelen vaker een recidief of secundaire maligniteiten.<sup>4,5</sup> Bij een deel van de patiënten met verworven aplastische anemie is sprake van een relatieve toename van klonale cellen die het glycofosfatidylinositol (GPI)-anker missen zonder dat er sprake is van een klinische manifestatie van het ziektebeeld paroxysmale nachtelijke hemoglobinurie (PNH) met hemolyse. In geval van beenmergfalen dient de behandeling op de aplastische-anemie-component te worden gericht.<sup>2,6,7</sup>

## Diagnostiek

### Anamnese

Klachten:

- Klachten van anemie
- Koorts, infecties
- Huid- en slijmvliesbloedingen

Etiologie:

- Familiair voorkomen van pancytopenie, longfibrose, leverfalen, hematologische maligniteiten
- Recentelijk doorgemaakte infecties
- Geneesmiddelengebruik
- Expositie aan chemicaliën/bestrijdingsmiddelen

### Lichamelijk onderzoek

- Aandacht voor congenitale afwijkingen passend bij Fanconi-anemie: dysplasie duimen, onderontwikkelde radius, café-au-lait-vlekken, klein hoofd/ogen
- Aandacht voor congenitale afwijkingen passend bij dyskeratosis congenita: nageldystrofie, reticulaire huidpigmentatie, mucosale leukoplakie
- Aandacht voor aanwezigheid van lymfadenopathie of hepatosplenomegalie

### Aanvullend onderzoek

- Volledig bloedbeeld inclusief reticulocyten en leukocytendifferentiatie
- Haptoglobine/directe antiglobulinetest
- Leverenzymen en nierfunctie

**Tabel 1.** Definities diagnose en effect van behandeling.

Diagnose	
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"> <li>• beenmergcellulariteit &lt;25% (of 25-50% indien &lt;30% van het beenmerg bestaat uit hematopoëtische cellen)</li> <li>• plus <math>\geq 2</math> van de volgende 3:                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- neutrofielen <math>&lt; 0,5 \times 10^9/l</math></li> <li>- trombocyten <math>&lt; 20 \times 10^9/l</math></li> <li>- reticulocyten <math>&lt; 20 \times 10^9/l</math></li> </ul> </li> </ul>
zeer ernstige aplastische anemie	conform ernstige aplastische anemie, maar neutrofielen $< 0,2 \times 10^9/l$
Effect na behandeling	
complete remissie	normalisatie van bloedbeeld
partiële remissie	<ul style="list-style-type: none"> <li>• niet-ernstige aplastische anemie (indien voor behandeling transfusieafhankelijk): transfusieonafhankelijkheid zonder normalisatie bloedbeeld</li> <li>• (zeer) ernstige aplastische anemie: transfusieonafhankelijkheid en neutrofielenstijging tot <math>\geq 0,5 \times 10^9/l</math></li> </ul>

- Vitamine B<sub>12</sub>, foliumzuur
- Diagnostiek CMV, EBV, hiv, Parvovirus B19, HHV-6, hepatitis B en C; indien aanwijzingen voor recente hepatitis tevens diagnostiek hepatitis A, D, E, G
- PNH-diagnostiek
- Beenmergaspiraats inclusief immuunfenotypering, cytogenetica en FISH-onderzoek naar MDS-geassocieerde afwijkingen. Echter ook bij verworven aplastische anemie kunnen cytogenetische afwijkingen voorkomen (meestal trisomie).
- Beenmergbiopsie van voldoende lengte (minimaal 2 cm) inclusief CD34- en reticulinekleuring
- CT-thorax ter uitsluiting van thymoom
- HLA-typering kan nuttig zijn bij het voorspellen van respons op immuunsuppressieve therapie en is noodzakelijk bij analyse naar onvoldoende opbrengst op trombocytentransfusies dan wel indien een indicatie voor allogene hematopoëtische stamceltransplantatie (HSCT) bestaat. HLA-DRB1\*1501 en 1502 zijn geassocieerd met een goede respons op IST.
- Bij patiënten < 40 jaar uitsluiten Fanconi-anemie (mitomycine-C-test, aan te vragen in enkele academische ziekenhuizen), zo nodig gevolgd door DNA-diagnostiek (in VUmc). Zie [www.dnadiagnostiek.nl](http://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 1 van de academische ziekenhuizen te bespreken met de patiënt. Onderzoek naar *TERT/TERC/TINF2*-genmutaties kan worden verricht in het UMCN. Zie [www.dnadiagnostiek.nl](http://www.dnadiagnostiek.nl).

*Differentiaaldiagnose*

- Hypoplastische MDS  
Het onderscheid met verworven aplastische anemie kan lastig zijn. Discrete dysplastische afwijkingen in de erytropoëse komen ook voor bij verworven aplastische anemie. Dysplasie kan derhalve het beste in megakaryocyten worden beoordeeld.
- Congenitaal beenmergfalensyndroom  
Fanconi-anemie (en in zeldzame gevallen dyskeratosis congenita) kan zich, zoals eerder beschreven, op volwassen leeftijd manifesteren met weinig of geen uiterlijke kenmerken (dit betreft tot 30% van de patiënten). Patiënten met Fanconi-anemie reageren niet op immuunsuppressieve therapie en bij

**Tabel 2.** Leidraad behandeling van (zeer) ernstige aplastische anemie. Zie tekst voor details.

	Jongeren	Ouderen
<b>1<sup>e</sup> lijn</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• HSCT van HLA-identieke 'sibling'</li> <li>• IST als geen HLA-identieke 'sibling'</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• IST</li> </ul>
<b>2<sup>e</sup> lijn</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• HSCT van HLA-identieke onverwante donor</li> <li>• tweedelijns-IST als geen HLA-identieke onverwante donor</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• HSCT van HLA-identieke 'sibling' of onverwante donor</li> <li>• tweedelijns-IST als geen donor</li> </ul>
<b>3<sup>e</sup> lijn</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alternatieve IST</li> <li>• alternatieve donor (dubbel 'cord blood')</li> <li>• 'supportive care'</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alternatieve IST</li> <li>• alternatieve donor (dubbel 'cord blood')</li> <li>• 'supportive care'</li> </ul>

een allogene HSCT dient een aangepaste conditionering te worden gebruikt.

- Voedingsdeficiënties, anorexia nervosa
- 'T-cell large granular lymphocytic leukemia' (T-LGL), waarbij moet worden aangetekend dat ook bij verworven aplastische anemie expansie van deze cellen is beschreven.
- 'Hairy cell'-leukemie
- Myelofibrose
- Hypoplastische AML

#### Definities

Zie Tabel 1, pagina 203.

## Behandeling

### Algemene maatregelen

#### Antimicrobiële profylaxe

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. PCP-profylaxe en valaciclovir ter preventie van herpesinfecties wordt gegeven gedurende de lymfopene periode na ATG en na allogene HSCT.

Het grote risico bij (zeer) ernstige aplastische anemie is het optreden van een invasieve schimmelinfectie. Schimmelprofylaxe wordt dan ook aanbevolen bij langdurige neutropenie (in ieder geval indien sprake is van een zeer ernstige aplastische anemie). Er is geen plaats voor primaire profylaxe met G-CSF.

#### Transfusies

Conform de Nederlandse CBO-richtlijn 'Bloedtransfusie 2011' wordt geadviseerd patiënten die IST met

ATG of alemtuzumab krijgen bestraalde bloedproducten toe te dienen gedurende minimaal een halfjaar na beëindigen van de behandeling. Hoewel het toedienen van granulocytentransfusies wordt gesuggereerd in de EBMT-richtlijn, ontbreekt hiervoor het bewijs bij volwassen patiënten met aplastische anemie. Theoretisch bestaat de kans op immunisatie na granulocytentransfusie.

#### Chelatietherapie

Secundaire ijzerstapeling door meerdere bloedtransfusies dient te worden behandeld door middel van chelatietherapie. Gezien de toegenomen incidentie van agranulocytose bij gebruik van deferipron, wordt dit middel niet geadviseerd bij aplastische anemie. Daarnaast geldt dat gelijktijdige behandeling met deferasirox en ciclosporine meestal niet goed mogelijk is door het hierbij optredende nierfunctieverlies.

#### Specifieke behandeling van aplastische anemie

##### Wanneer behandelen

(Zeer) ernstige aplastische anemie is een indicatie tot behandeling. Bij een niet-ernstige aplastische anemie bestaat een behandelindicatie indien de patiënt transfusieafhankelijk is. Voor patiënten zonder transfusieafhankelijkheid kan een expectatief beleid worden gevoerd. Wanneer een niet-ernstige aplastische anemie op basis van een dalend neutrofielenaantal evolueert naar een ernstige aplastische anemie, dient de ziekte ook als zodanig te worden behandeld.

Potentieel beenmergtoxische medicatie dient direct te worden gestaakt. Indien het bloedbeeld tijdens de diagnosestelling (ongeveer 2-3 weken) niet spontaan verbetert, dient zo snel mogelijk te worden gestart

**Tabel 3.** Behandelingschema's van immuunsuppressieve therapie.

Dag	1	2	3	4	5	6
<b>PAARD-ATG</b>						
ATGAM 40 mg/kg						
ciclosporine 2 dd 2,5 mg/kg						
<b>KONIJN-ATG</b>						
thymoglobuline 3,75 mg/kg						
ciclosporine 2 dd 2,5 mg/kg						

**Aandachtspunten:**

- ATGAM wordt geïmporteerd na rechtstreekse bestelling bij de producent (Pfizer). Zie NVvH- website voor details.
- Toediening van ATG dient plaats te vinden in ziekenhuizen waar ervaring is met de behandeling en langere follow-up van deze patiënten en de resultaten dienen in een nationale database te worden verzameld.
- De belangrijkste acute bijwerkingen zijn koorts, koude rillingen, myalgie, artralgie, huiduitslag, hypotensie en hypoxemie.
- Bij ATG dient prednison te worden gegeven inclusief afbouwschema over 3-4 weken ter preventie van acute reacties en serumziekte.
- Trombocyten dienen op de dagen dat ATG wordt gegeven zo mogelijk >20-30 x 10<sup>9</sup>/l te zijn.
- Bij behandeling met ATG dienen bestraalde bloedproducten te worden gebruikt.
- Start na behandeling met ATG profylaxe tegen PCP en herpesvirus.
- Start ciclosporine op de eerste dag van de ATG-toediening, streef naar een dalspiegel tussen 200 en 300 ug/l.
- Ciclosporine dient langdurig te worden gecontinueerd (zie tekst).
- Indien ciclosporine-geïnduceerde hypertensie optreedt, start amlodipine.
- Start schimmelprofylaxe bij langdurige neutropenie.

met de behandeling. Eventueel aanwezige infecties dienen zo goed mogelijk te worden behandeld, maar vormen geen reden om de noodzakelijke behandeling lang uit te stellen.

(Zeer) ernstige aplastische anemie

In verband met de sterk gestoorde immuniteit van patiënten met een (zeer) ernstige aplastische anemie, dienen deze patiënten te worden behandeld in centra waar ervaring is met de zorg voor patiënten die een allogene of autologe HSCT ondergaan. Daarbij dient een keuze te worden gemaakt tussen IST dan wel een allogene HSCT. Er bestaan geen gerandomiseerde studies waarbij deze behandelingen met elkaar worden vergeleken. Beide behandelingsmodaliteiten verschillen niet alleen in werkingsmechanisme, maar ook in toxiciteit en effectiviteit.

IST kent minder vroege bijwerkingen anders dan direct medicatiegerelateerd en kan ook worden toegepast bij patiënten op oudere leeftijd of met comorbiditeit.

Hier staat tegenover dat na IST de kans groter is op recidiefziekte dan wel klonale evolutie (AML/MDS) vanaf enkele jaren na de behandeling. Allogene HSCT is geschikt voor jongere patiënten zonder belangrijke comorbiditeit, maar gaat gepaard met een risico op transplantaatfalen, graft-versus-hostziekte (GvHD) en transplantatiegerelateerde mortaliteit. Deze risico's zijn vooralsnog hoger bij een onverwante dan bij een verwante donor, hoewel direct vergelijkende studies ontbreken (voor details zie onder). Het internationale advies is daarom bij jongere patiënten allogene HSCT als eerstelijnsbehandeling alleen toe te passen indien zij over een verwante donor beschikken. Als leeftijdsgrens wordt in de verschillende richtlijnen 40 jaar gebruikt, waarbij er ruimte is om met patiënten tot 50 jaar zonder comorbiditeit en met een verwante donor de mogelijkheden van een allogene HSCT te bespreken. Op basis van deze richtlijnen kan *Tabel 2* als leidraad worden gebruikt voor de behandeling van volwassen patiënten met (zeer) ernstige

aplastische anemie. Hierbij dient te worden opgemerkt dat er bij individuele patiënten gefundeerde redenen kunnen zijn om van dit schema af te wijken. Zo kan het voor patiënten met een zeer ernstige aplastische anemie en diepe neutropenie de voorkeur hebben in eerste lijn voor allogene HSCT te kiezen, om de duur van neutropenie te beperken. Ook het inzetten van een niet-volledig gematchte donor is een afweging die individueel dient te worden gemaakt. De aanwezigheid van een monosomie 7 kan, ook zonder dat er aanwijzingen zijn voor MDS of AML, een reden zijn om te kiezen voor een allogene HSCT.

### Immuunsuppressieve therapie (IST)

#### *Eerstelijns-IST*

##### ATGAM

Van oudsher bestaat eerstelijns-IST uit ciclosporine in combinatie met ATG, verkregen door immunisatie van paard (lymfoglobuline in Europa, ATGAM in Amerika) of konijn (thymoglobuline) met humane thymocyten. Toen lymfoglobuline in Europa vanaf 2008 niet meer beschikbaar was, werd overgegaan op thymoglobuline. Recentelijk is echter in een gerandomiseerde studie aangetoond dat paard-ATG (ATGAM) plus ciclosporine effectiever is als eerstelijnsbehandeling voor (zeer) ernstige aplastische anemie dan konijn-ATG plus ciclosporine.<sup>8</sup> Na 6 maanden bedroeg het percentage patiënten met een respons 68% versus 37%, hetgeen zich ook vertaalde in een overlevingsvoordeel voor patiënten behandeld met paard-ATG. Ook andere recente studies tonen met paard-ATG plus ciclosporine 60-70% respons binnen 6 maanden en een driejaarsoverleving van meer dan 90%.<sup>9</sup> ATGAM is in Nederland nog niet geregistreerd, maar kan via een doktersverklaring bij de producent (Pfizer) worden besteld.

Bij een hematologische respons wordt geadviseerd de ciclosporine na 6 tot 12 maanden langzaam af te bouwen.<sup>10</sup> Hierbij wordt de dosering dan per maand 5-10% verlaagd. Bij 15-25% van de patiënten blijkt de ciclosporine niet helemaal te kunnen worden afgebouwd. Indien geen normalisatie van de bloedwaarden optreedt, wordt geadviseerd om de ciclosporine in de laagst mogelijke dosering waarbij de respons behouden blijft te continueren. Bij uitblijven van respons na 6 maanden na paard-ATG dient een volgende lijn behandeling te worden ingezet (zie onder). Voor

aandachtspunten rondom ATG/ciclosporine-toediening, zie Tabel 3 'Behandelschema's', pagina 205.

##### ATGAM bij oudere patiënten

De incidentie van aplastische anemie neemt toe boven een leeftijd van 60-65 jaar, maar er zijn geen prospectieve gerandomiseerde studies naar de veiligheid en effectiviteit van ATG bij oudere patiënten. Op basis van kleine, retrospectieve studies lijkt een leeftijd tot 75-80 jaar geen absolute contra-indicatie voor behandeling met standaard-IST bij aplastische anemie, maar dient hierbij wel de algemene conditie, met name de cardiale status, van de patiënt in ogenschouw te worden genomen.<sup>11,12</sup> Indien een patiënt niet geschikt wordt geacht voor deze behandeling, kan ook worden gekozen voor ciclosporine-monotherapie, aangezien deze behandeling, met name bij niet-ernstige aplastische anemie, ook tot een respons kan leiden.<sup>12,13</sup> Overwogen kan worden een lagere ciclosporinespiegel (100-150 µg/l) na te streven in verband met een hogere kans op ciclosporine-geassocieerde toxiciteit bij oudere patiënten.<sup>1</sup>

##### *Tweedelijns-IST*

##### Thymoglobuline

Indien een patiënt niet respondeert op eerstelijns-therapie met paard-ATG, dient de keuze te worden gemaakt tussen een allogene HSCT of tweedelijns-IST (zie boven). Er is beperkte ervaring met thymoglobuline als tweedelijns-IST na falen van eerstelijnsbehandeling met paard-ATG met wisselende responspercentages in kleine groepen patiënten (27-77%).<sup>14,15</sup> Er zijn geen resultaten bekend over de reponskans van patiënten die na falen van eerstelijnsbehandeling met ATGAM opnieuw deze behandeling krijgen.

##### *Alternatieve IST*

##### ATG-Fresenius

ATG-Fresenius (verkregen door immunisatie van konijn met Jurkat-T-celleukemiecellen) is in 2 studies inferieur gebleken aan paard-ATG als eerstelijnsbehandeling.<sup>9</sup> Er zijn geen vergelijkende onderzoeken verricht tussen de 2 soorten konijn-ATG (ATG-Fresenius en thymoglobuline) als tweedelijnsbehandeling.

##### Cyclofosfamide

Voor monotherapie met een hoge dosis cyclofosfamide (50 mg/kg/dag gedurende 4 dagen) na falen

op eerstelijnsbehandeling is vooralsnog geen plaats. Hoewel 1 Amerikaans centrum een hoog responspercentage (71%) liet zien, gaat deze behandeling gepaard met een lange neutropene periode en een hoge incidentie van Aspergillus-infecties (44%) en mortaliteit.<sup>16</sup>

#### Alemtuzumab

In een recent overzicht gebaseerd op 3 NIH-studies bleek het responspercentage voor monotherapie met alemtuzumab in eerste lijn 19% (n=16), bij patiënten met een recidief na ATG 56% (n=25) en bij patiënten met refractaire ziekte 37% (n=27).<sup>17</sup> Het responspercentage lijkt derhalve beperkt, maar voor sommige patiënten kan het een voordeel zijn dat deze behandeling zonder ciclosporine wordt gegeven. Nadeel is de kans op (opportunistische) infecties.

#### *Langetermijnfollow-up na IST*

Na het bereiken van een respons op ATG ontwikkelt 30-40% van de patiënten een recidief van aplastische anemie en 10-15% van de responderende patiënten ontwikkelt later MDS of AML.<sup>4,18</sup> Ook is er een verhoogd risico op secundaire solide tumoren.<sup>19</sup> Patiënten dienen derhalve voor onbepaalde tijd te worden gevolgd, gericht op het ontwikkelen van een recidief dan wel secundaire hematologische maligniteit of solide tumor. Hiernaast dient jaarlijks te worden gescreend op het ontstaan van een GPI-deficiënte celkloon aangezien die kan leiden tot PNH. Indien er in de follow-up een GPI-deficiënte celkloon wordt aangetoond, dient dit onderzoek binnen een halfjaar te worden herhaald. Routinematig beenmergonderzoek is in de praktijk meestal niet haalbaar, als alternatief kan een eenmalig beenmergonderzoek 3 tot 4 maanden na het bereiken van een respons op ATG worden verricht en daarna alleen op indicatie.<sup>1</sup> Geadviseerd wordt, indien in het beenmerg een afwijkend karyotype wordt aangetoond, het onderzoek na enige maanden te herhalen, aangezien afwijkingen spontaan kunnen verdwijnen. Uitzondering hierop vormt het ontstaan van een kloon met monosomie 7, waarbij wordt geadviseerd over te gaan tot een allogene HSCT in verband met het hoge risico op het ontwikkelen van AML of MDS.<sup>3</sup>

Indien na het optreden van een respons toch een recidief optreedt, kan worden overwogen om een tweede ATG-kuur te geven. Een tweede kuur met hetzelfde ATG kan samengaan met een grotere kans op anti-

stofontwikkeling en overgevoeligheidsreacties (zie ook 'Conditionering'). Een goed alternatief kan dan behandeling met een ander soort ATG zijn, maar vergelijkende studies ontbreken.

Bijzondere aandacht moet worden gegeven aan vrouwelijke patiënten met aplastische anemie die na een succesvolle behandeling met IST zwanger willen worden, aangezien er een verhoogde recidiefkans lijkt te bestaan tijdens de zwangerschap. In een retrospectieve studie van de 'EBMT Working Party on Aplastic Anemia' ontwikkelden 6 van de 32 beschreven zwangere patiënten in complete remissie/partiële remissie (CR/PR) na eerdere behandeling met ATG een recidief van aplastische anemie.<sup>20</sup> Vrouwelijke patiënten dienen hierover te worden voorgelicht en in het geval van zwangerschap frequent te worden gecontroleerd.

#### **Allogene hematopoëtische stamceltransplantatie (HSCT)**

Hoewel gerandomiseerde studies ontbreken, wordt een allogene HSCT met een HLA-identieke 'sibling'-donor beschouwd als de standaardbehandeling voor jongere patiënten met een (zeer) ernstige aplastische anemie. Zoals hierboven opgemerkt, valt een exacte leeftijdsgrens niet aan te geven.

Specifieke aandachtspunten hierbij zijn:

- De verhoogde kans op transplantaatfalen bij allogene HSCT voor (zeer) ernstige aplastische anemie (5-10%) vergeleken met allogene HSCT voor maligne aandoeningen wanneer dezelfde conditionering wordt gebruikt.
- 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 langetermijneffecten, met name secundaire maligniteiten. Daarom wordt in de conditioneringsregimes voor (zeer) ernstige aplastische anemie afgezien van hoge dosis totale lichaamsbestraling (TBI).

De conditioneringsregimes die internationaal bij (zeer) ernstige aplastische anemie worden toegepast, zijn ontwikkeld op basis van bovenstaande aandachtspunten. Indien wordt gekozen 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.

**Tabel 4.** Leidraad voor conditioning van allogene HSCT bij volwassenen. Zie tekst voor details.

Dag	-5	-4	-3	-2	-1	0
<b>Standaardschema voor jongere patiënten</b>						
cyclofosfamide 50 mg/kg						
thymoglobuline 3,75 mg/kg*						
TBI 2 Gy**					**	
stamcelinfusie						
<b>Alternatief schema</b>						
fludarabine 30 mg/m <sup>2</sup>						
cyclofosfamide 50 mg/kg						
thymoglobuline 3,75 mg/kg*						
TBI 2 Gy**					**	
stamcelinfusie						
* Voor maatregelen rondom gebruik van thymoglobuline zie 'Behandelschema's van immuunsuppressieve therapie'.						
** Alleen bij onverwante donor; in geval van gemismatchte onverwante donor kan ook 2 x 2 Gy TBI op dag -1 worden gegeven.						
<b>GvHD-profylaxe</b>						
Ciclosporine: tweemaal daags 2,5 mg/kg vanaf dag -3 tot minimaal +12 maanden.						
Methotrexaat: dag +1 minimaal 24 uur na stamcelinfusie 15 mg/m <sup>2</sup> push i.v.; dag +3, +6, +11: 10 mg/m <sup>2</sup> .						

### Patiëntselectie

Onder optimale omstandigheden leidt allogene HSCT tot een uitstekende overleving voor patiënten met (zeer) ernstige aplastische anemie (in grotere series tienjaarsoverleving >85%, bij jongvolwassen patiënten <20 jaar met een verwante donor). De uitkomst bij oudere patiënten of patiënten met een onverwante donor zijn evenwel slechter en dienen zorgvuldig te worden afgewogen tegen de resultaten na IST.

Het verschil in uitkomst na HSCT met een verwante versus onverwante donor is groter dan bij maligne ziektebeelden. 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 50 jaar.<sup>21</sup> De leeftijdsgrens van 50 jaar wordt ook ondersteund door een andere retrospectieve studie.<sup>22</sup> Hoewel allogene HSCT ook op hogere leeftijd uitvoerbaar is, weegt in het geval van (zeer) ernstige aplastische anemie de winst van eerstelijns-allogene HSCT door de toenemende morbiditeit en mortaliteit niet meer op tegen de resultaten van IST. Derhalve dienen alleen jongere patiënten met een

HLA-identieke verwante donor in de eerste lijn allogene te worden getransplanteerd. Voor jongere patiënten die niet over een verwante donor beschikken en voor oudere patiënten geldt dat allogene HSCT pas in de tweede lijn dient te worden toegepast. Het is evenwel belangrijk tijdig tot een mogelijke allogene HSCT over te gaan, omdat een lang interval van diagnose tot transplantatie is geassocieerd met een slechtere uitkomst.<sup>23</sup>

### Conditionering

Voor jongere patiënten met een verwante donor wordt conditioning met een hoge dosis cyclofosfamide (50 mg/kg dag -5 tot en met -2) + ATG geadviseerd (over de dosering thymoglobuline bestaat geen consensus, zowel 3 x 2,5 mg/kg als 3 x 3,75 mg/kg wordt gebruikt). Dit schema (Cy/ATG) is zeer immuunsuppressief, ter voorkoming van transplantaatfalen en GvHD.

Er bestaat internationaal geen consensus over de vraag tot welke leeftijd Cy/ATG een geschikt schema is. Ook bij patiënten >40 jaar wordt dit schema toege-



past, mits de patiënt een goede (cardiale) conditie heeft en beenmerg als stamcelbron wordt gebruikt.<sup>24</sup>

Een standaardschema bij jongere patiënten die een allogene HSCT van een onverwante donor krijgen, bestaat evenmin. Een goede mogelijkheid is het toevoegen van 2 Gy TBI op dag -1 aan Cy/ATG.<sup>25</sup> In dit protocol, dat ook in het 'Fred Hutchinson Cancer Research Center' in Seattle wordt gebruikt, wordt bij 'mismatched' onverwante donoren 2 x 2 Gy TBI op dag -1 toegevoegd.

Daarnaast zijn er op fludarabine gebaseerde schema's in combinatie met lagere dosis cyclofosfamide, ATG en in geval van een onverwante donor lage dosis TBI in ontwikkeling.<sup>26-28</sup> Dit is met name een alternatief voor patiënten die ouder zijn, comorbiditeit hebben of bij gebruik van een onverwante donor. In een Amerikaanse fase I/II cyclofosfamide-deëscalatiestudie bij patiënten van uiteenlopende leeftijd vond men een toename van orgaanschade bij een totale dosis cyclofosfamide van 150 mg/kg, waar 100 mg/kg wel werd getolereerd.<sup>27</sup> Ook in Europa is ervaring opgedaan met fludarabine en een lagere dosis cyclofosfamide (4 dagen 300 mg/m<sup>2</sup>) en ATG: bij verwante donoren was dit retrospectief superieur aan Cy/ATG bij patiënten >40 jaar die in tweede lijn werden behandeld.<sup>28</sup> Bij onverwante donoren leidde een vergelijkbaar schema met 4 x 300 mg/m<sup>2</sup> cyclofosfamide ondanks toevoegen van ATG en 2 Gy TBI tot een hoog percentage transplantatiefalen, hetgeen werd geweten aan de lagere dosis cyclofosfamide (let ook op de dosering per lichaamsoppervlak in plaats van per kilo).<sup>29</sup> Het huidige EBMT-advies bij onverwante donoren maakt dan ook gebruik van een hogere dosis cyclofosfamide.<sup>30</sup>

Samenvattend geldt de volgende leidraad (zie ook Tabel 4).

#### Conditionering bij HLA-identieke verwante donor

*Standaard:* cyclofosfamide (dag -5 t/m -2: 50 mg/kg/dag) en thymoglobuline (dag -5 t/m -3: 3,75 mg/kg/dag). Dit is ook haalbaar >40 jaar, mits een goede (cardiale) 'performance score' en beenmerg als stamcelbron.

*Alternatief:* bij ouderen (>40 jaar) met HLA-identieke verwante donor die niet aan bovengenoemde criteria voldoen: fludarabine (dag -5 t/m -2: 30 mg/m<sup>2</sup>), cyclofosfamide (dag -3 t/m -2: 50 mg/kg) en thymoglobuline (dag -3 en -2: 3,75 mg/kg).

#### Conditionering bij onverwante donor

*Standaard:* Cy/ATG-schema zoals bij HLA-identieke verwante donor, waaraan toegevoegd 1 x 2 Gy TBI op dag -1; bij een gemismatchte donor kan 2 x 2 Gy TBI op dag -1 worden gegeven.

*Alternatief:* Op dezelfde gronden als bij HLA-identieke verwante donor beschreven bij patiënten >40 jaar fludarabine (dag -5 t/m -2: 30 mg/m<sup>2</sup>), cyclofosfamide (dag -3 t/m -2: 50 mg/kg) en thymoglobuline (dag -3 en -2: 3,75 mg/kg) met 1 x 2 Gy TBI op dag -1; bij gemismatchte donor kan op dag -1 2 x 2 Gy TBI worden gegeven.

Bij patiënten die reeds met konijnen-ATG zijn behandeld en dit in de conditionering opnieuw krijgen, dient rekening te worden gehouden met de mogelijkheid dat ATG-antistoffen zijn ontwikkeld. Binnen de kindergeneeskunde zijn hiervan casus beschreven, leidend tot een verhoogde kans op rejectie en GvHD.<sup>31</sup> Anti-thymocytenoglobuline-antistoffen kunnen desgewenst worden bepaald in het Laboratorium Kinderimmunologie van het LUMC. Indien antistoffen aanwezig zijn, kan worden overwogen alemtuzumab in de conditionering toe te passen.

#### GvHD-profylaxe

Met bovengenoemde conditioneringsschema's is de kans op acute GvHD beperkt (10-20%), maar blijft het risico op chronische GvHD aanzienlijk (30-40%). Het is daarom zaak immuunsuppressie langdurig te continueren. De basis van GvHD-profylaxe is langdurig ciclosporine, tot minimaal 12 maanden posttransplantatie. In een gerandomiseerde studie is aangetoond dat toevoeging van kortdurend methotrexaat leidt tot minder GvHD.<sup>32</sup> Het advies is dan ook ciclosporine: tweemaal daags 2,5 mg/kg vanaf dag -3 plus methotrexaat dag +1 minimaal 24 uur na stamcelinfusie 15 mg/m<sup>2</sup> push i.v.; dag +3, +6, +11: 10 mg/m<sup>2</sup> push i.v. Er zijn geen gegevens betreffende het effect van de in Nederland veel gebruikte combinatie ciclosporine met mycofenolaatmofetil.

Het is essentieel ciclosporine A niet voortijdig af te bouwen, gezien het significante risico dat alsnog transplantatiefalen optreedt. Dit wordt in het algemeen voorafgegaan door progressief mixed chimerisme, gedefinieerd als >10% ontvangercellen dan wel >15% toename van ontvangercellen binnen 3 maanden. Overigens is stabiel mixed chimerisme geassocieerd

### Aanwijzingen voor de praktijk

- 1.** Bij volwassenen met een aplastische anemie ontstaat een behandelindicatie zodra er sprake is van een ernstige aplastische anemie of een niet-ernstige vorm met transfusieafhankelijkheid. Bij een niet-ernstige vorm zonder transfusieafhankelijkheid dient het starten van therapie op individuele basis te worden beoordeeld.
- 2.** Zowel immuunsuppressieve therapie met antithymocytenoglobuline (ATG) plus ciclosporine als een allogene beenmergtransplantatie kunnen leiden tot een complete respons. Beide behandelingsmodaliteiten verschillen in werkingsmechanisme, maar ook in toxiciteit en effectiviteit. Gerandomiseerde vergelijkende studies ontbreken.
- 3.** Behandeling met ATG dient plaats te vinden in een centrum dat ervaring heeft met de behandeling van sterk immuungecompromitteerde patiënten. Patiënten dienen voor onbepaalde tijd te worden vervolgd in verband met het optreden van late complicaties of recidief ziekte.
- 4.** Eerstelijns- immuunsuppressieve therapie bestaand uit paard-ATG (ATGAM) met ciclosporine A leidt tot een respons bij 60-70% van de patiënten.
- 5.** Jongere, fitte patiënten met een HLA-identieke 'sibling'-donor komen in aanmerking voor allogene beenmergtransplantatie als eerstelijnsbehandeling. Bij de keuze van stamcelbron, conditionering en graft-versus-hostziekte (GvHD)-profylaxe dient het vermijden van GvHD voorop te staan, aangezien het optreden hiervan niet functioneel is bij dit benigne ziektebeeld.
- 6.** Gezien de zeldzaamheid van het ziektebeeld en de kostbare behandeling dienen de effectiviteit en veiligheid van de huidige behandelingen te worden geëvalueerd door het aanmelden en vervolgen van patiënten in de NVvH-registratie aplastische anemie die in 2013 van start zal gaan.

met een uitstekende overleving en laag risico op chronische GvHD.

Het Engelse schema waarbij alemtuzumab wordt gebruikt in de conditionering en GvHD-profylaxe plaatsvindt met 'single agent'-ciclosporine, wordt hier buiten beschouwing gelaten.

#### *Stamcelbron*

Inmiddels is in meerdere studies aangetoond dat het gebruik van beenmerg in plaats van perifere bloed als stamcelbron leidt tot minder chronische GvHD, ook bij volwassenen.<sup>33-36</sup>

Beenmerg is derhalve de geprefereerde stamcelbron. De optimale 'target'-celdosis waarborgt engraftment, maar leidt niet tot toename van GvHD. Hierover zijn beperkt gegevens beschikbaar. In een studie (46 patiënten, overwegend BMT, verschillende conditioneringen) werd het optimum op  $>3,0 \times 10^8$  kern-

houdende cellen/kg danwel  $>2,0 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup>-cellen/kg gesteld.<sup>37</sup> Een hogere celdosis lijkt echter ook gerelateerd aan een grotere kans op chronische GvHD (hazardratio 7,7 indien  $>3,4 \times 10^8$  kernhoudende cellen/kg) in een retrospectieve studie (81 patiënten, allen BMT van verwante donor na Cy/ATG), waarin een optimale celdosis van  $2,5 \times 10^8$  kernhoudende cellen/kg wordt gesuggereerd.<sup>38</sup>

#### *In-vitro-T-celdepletie*

Een andere strategie om ernstige acute en chronische GvHD te voorkomen, is het gebruik van een in-vitro T-cel-gedepleteerd perifere bloed stamceltransplantaat. In combinatie met een op fludarabine gebaseerde conditionering leidde dit in een prospectieve studie uit Zuid-Afrika tot een goede engraftment zonder ernstige GvHD.<sup>39</sup> In Nederland bestaat ervaring met een soortgelijk schema in het LUMC, waarbij slechts

zeer beperkte GvHD optreedt en geen post-transplantatie immuunsuppressieve therapie nodig is.

#### *Alternatieve stamcelbron*

De resultaten van 'single cord blood'-HSCT bij volwassen patiënten met (zeer) ernstige aplastische anemie zijn voorsnog teleurstellend, met in kleine series patiënten een hoog risico op transplantatiefalen.<sup>40,41</sup> Er zijn nog weinig gegevens over de uitkomst na een 'double cord blood'-HSCT. Patiënten met een leeftijd tussen 18 en 65 jaar zonder geschikte donor voor wie wel een indicatie is tot HSCT kunnen worden geïncludeerd in de HOVON 115-studie.

### Overige specifieke therapie

#### *Eltrombopag*

Het trombopoëtië-mimeticum eltrombopag liet in een recente kleine fase II-studie een multilineage respons van 44% zien bij patiënten met aplastische anemie die refractair waren op standaardtherapie.<sup>42</sup> De langetermijneffecten zijn onbekend en eltrombopag is niet geregistreerd voor de behandeling van aplastische anemie. In de nabije toekomst zullen gerandomiseerde studies starten naar de effectiviteit en veiligheid van eltrombopag bij de behandeling van aplastische anemie.

#### *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.<sup>43,44</sup> Een Mexicaanse studie naar de effecten van behandeling met danazol (mediane dosering 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%.<sup>45</sup> Behandeling met androgenen is derhalve alleen een overweging bij patiënten die geen ATG dan wel allogene HSCT verdragen of hierop niet hebben gerespondeerd.

### Conclusie

Dit is de eerste NVvH-richtlijn voor verworven aplastische anemie bij volwassenen. Beoogd wordt adequate en zorgvuldige diagnostiek bij dit zeldzame

ziektebeeld te bevorderen en behandeling en monitoring van deze patiënten te optimaliseren. Daartoe wordt momenteel een registratie ontwikkeld, waarin volwassenen met verworven aplastische anemie zullen worden vervolgd (contactpersoon: dhr. dr. C.J.M. Halkes, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Leids Universitair Medisch Centrum, e-mailadres: c.j.m.halkes@lumc.nl).

### Referenties

1. Marsh JC, Ball SE, Cavenagh J, et al. Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anaemia. *Br J Haematol* 2009;147:43-70.
2. Passweg JR, Aljurf M. Treatment and hematopoietic stem cell transplantation in aplastic anemia. Editorial, *Bone Marrow Transplant* 2013;48:161.
3. Scheinberg P, Young NS. How I treat acquired aplastic anemia. *Blood* 2012;120:1185-96.
4. Scheinberg P, Cooper JN, Sloand EM, et al. Association of telomere length of peripheral blood leukocytes with hemapoietic relapse, malignant transformation and survival in severe aplastic anemia. *JAMA* 2010;304:1358-64.
5. Calado RT, Cooper JN, Padilla-Nash, et al. Short telomeres result in chromosomal instability in hematopoietic cells and precede malignant evolution in human aplastic anemia. *Leukemia* 2012;26:700-7.
6. Scheinberg P, Wu CO, Nunez O, et al. Predicting response to immunosuppressive therapy and survival in severe aplastic anaemia. *Br J Haematol* 2009;144:206-16.
7. Scheinberg P, Marte M, Nunez O, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in severe aplastic anemia patients treated with horse anti-thymocyte globulin plus cyclosporine. *Haematologica* 2010;95:1075-80.
8. Scheinberg P, Nunez OR, Weinstein BR, et al. Horse versus rabbit anti-thymocyte globulin in acquired aplastic anemia. *N Engl J Med* 2011;365:430-8.
9. Halkes CJ, Brand A, Backes E, et al. Eerstelijnsbehandeling met immuunsuppressieve therapie bij ernstige aplastische anemie: polyklonale antistoffen zijn niet zonder meer inwisselbaar. *Ned Tijdschr Hematol* 2012;9:263-70.
10. Saracco P, Quarello P, Iori AP, et al. Cyclosporin A response and dependence in children with acquired aplastic anemia: a multicentre retrospective study with long-term observation follow-up. *Br J Haematol* 2008;140:197-205.
11. Tichelli A, Socié G, Henry-Amar M, et al. Effectiveness of immunosuppressive therapy in older patients with aplastic anemia. *Ann Intern Med* 1999;130:193-201.
12. Kao SY, Xu W, Brandwein JM, et al. Outcome of older (> or = 60 years) patients with acquired aplastic anemia treated with immunosuppressive therapy. *Br J Haematol* 2008;143:738-43.
13. Marsh J, Schrezenmeier H, Marin P, et al. Prospective randomized multicenter study comparing cyclosporine alone versus the combination of anti-thymocyte globulin and cyclosporin for treatment of patients with nonsevere aplastic anemia: a report from the European Blood and Marrow Transplant (EBMT) Severe Aplastic Anemia working Party. *Blood* 1999;93:2191-5.
14. Scheinberg P, Nunez O, Youn NS. Retreatment with rabbit anti-thymocyte

globulin and ciclosporin for patients with relapsed or refractory severe aplastic anaemia. *Br J Haematol* 2006;133:622-7.

15. Di Bona E, Rodeghiero F, Bruno B, et al. Rabbit antithymocyte globulin (r-ATG) plus cyclosporine and granulocyte colony stimulating factor is an effective treatment for aplastic anaemia patients unresponsive to a first course of intensive immunosuppressive therapy. *Br J Haematol* 1999;107:330-4.

16. Brodsky RA, Chen AR, et al. High-dosed cyclophosphamide for severe aplastic anemia: long-term follow-up. *Blood* 2010;115:2136-41.

17. Scheinberg P, Nunez O, Weinstein B, et al. Activity of alemtuzumab monotherapy in treatment-naïve, relapsed, and refractory severe acquired aplastic anemia. *Blood* 2011;119:345-54.

18. Paquette RL, Tebyani N, Frane M, et al. Long-term outcome of aplastic anemia in adults treated with antithymocyte globulin: comparison with bone marrow transplantation. *Blood* 1995;85:283-90.

19. Frickhofen N, Heimpel H, Kaltwasser JP, et al. Antithymocyte globulin with or without cyclosporine A: 11-year follow-up of a randomized trial comparing treatments of aplastic anemia. *Blood* 2003;101:1236-42.

20. Tichelli A, Socié G, Marsh J, et al.; European Group for Blood and Marrow Transplantation Severe Aplastic Anaemia Working Party. Outcome of pregnancy and disease course among women with aplastic anemia treated with immunosuppression. *Ann Intern Med* 2002;137:164-72.

21. Passweg JR, Marsh JC. Aplastic anemia: first-line treatment by immunosuppression and sibling marrow transplantation. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2010:36-42.

22. Kim H, Kim BS, Kim DH, et al. Comparison between matched related and alternative donors of allogeneic hematopoietic stem cells transplanted into adult patients with acquired aplastic anemia: multivariate and propensity score-matched analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011;17:1289-98.

23. Armand P, Antin JH. Allogeneic stem cell transplantation for aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007;13:505-16.

24. Sangiolo D, Storb R, Deeg HJ, et al. Outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation from HLA-identical siblings for severe aplastic anemia in patients over 40 years of age. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16:1411-8.

25. Deeg HJ, O'Donnell M, Tolar J, et al. Optimization of conditioning for marrow transplantation from unrelated donors for patients with aplastic anemia after failure of immunosuppressive therapy. *Blood* 2006;108:1485-91.

26. Kojima S, Matsuyama T, Kato S, et al. Outcome of 154 patients with severe aplastic anemia who received transplants from unrelated donors: the Japan Marrow Donor Program. *Blood* 2002;100:799-803.

27. Tolar J, Deeg HJ, Arai S, et al. Fludarabine-based conditioning for marrow transplantation from unrelated donors in severe aplastic anemia: early results of a cyclophosphamide dose deescalation study show life-threatening adverse events at predefined cyclophosphamide dose levels. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;7:1007-11.

28. Maury S, Bacigalupo A, Anderlini P, et al. Improved outcome of patients older than 30 years receiving HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation for severe acquired aplastic anemia using fludarabine-based conditioning: a comparison with conventional conditioning regimen. *Haematologica* 2009;94:1312-5.

29. Bacigalupo A, Socié G, Lanino E, et al. Fludarabine, cyclophosphamide, antithymocyte globulin, with or without low dose total body irradiation, for alternative donor transplants, in acquired severe aplastic anemia: a retrospective study from the EBMT-SAA Working Party. *Haematologica* 2010;95:976-82.

30. Bacigalupo A, Marsh J. Unrelated donor search and unrelated donor transplantation in the adult patient aged 18-40 years without an HLA identical sibling and failing immunosuppression. *Bone Marrow Transplant* 2013;48:198-200.

31. Jol-van der Zijde CM, Bredius RG, Jansen-Hoogendijk AM, et al. IgG antibodies to ATG early after pediatric hematopoietic SCT increase the risk of acute GVHD. *Bone Marrow Transplant* 2012;47:360-8.

32. Locatelli F, Bruno B, Zecca M, 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;95:1690-1700.

33. Schrezenmeier H, Passweg JR, Marsh JC, 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;110:1397-400.

34. Eapen M, Le Rademacher J, Antin JH, et al. Effect of stem cell source on outcomes after unrelated donor transplantation in severe aplastic anemia. *Blood* 2011;118:2618-21.

35. Bacigalupo A, Socié G, Schrezenmeier H, 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;97:1142-8.

36. Chu R, Brazauskas R, Kan F, 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. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011;17:1018-24.

37. Islam MS, Anoop P, Datta-Nemdharry P, et al. Implications of CD34+ cell dose on clinical and haematological outcome of allo-SCT for acquired aplastic anaemia. *Bone Marrow Transplant* 2010;45:886-94.

38. Kahl C, Leisenring W, Deeg HJ, et al. Cyclophosphamide and antithymocyte globulin as a conditioning regimen for allogeneic marrow transplantation in patients with aplastic anaemia: a long-term follow-up. *Br J Haematol* 2005;130:747-51.

39. Novitzky N, Thomas V, Du Toit C, et al. Reduced-intensity conditioning for severe aplasia using fludarabine and CY followed by infusion of ex vivo T-cell-depleted grafts leads to excellent engraftment and absence of GVHD. *Bone Marrow Transplant* 2009;43:779-85.

40. Liu HL, Sun ZM, Geng LQ et al. Unrelated cord blood transplantation for newly diagnosed patients with severe acquired aplastic anemia using a reduced-intensity conditioning: high graft rejection, but good survival. *Bone Marrow Transplant* 2012;47:1186-90.

41. Peffault de Latour R, Purtil D, Ruggeri A et al. Influence of nucleated cell dose on overall survival of unrelated cord blood transplantation for patients with severe acquired aplastic anemia: a study by Eurocord and the aplastic

anemia working party of the European group for blood and marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011;17:78-85.

42. Olnes MJ, Scheinberg P, Calvo KR, et al. Eltrombopag and improved hematopoiesis in refractory aplastic anemia. *New Engl J Med* 2012;367:11-9.

43. Calado RT, Yewdell WT, Wilkerson KL, et al. Sex hormones, acting on the TERT gene, increase telomerase activity in human primary hematopoietic cells. *Blood* 2009;114:2236-43.

44. Ziegler P, Schrezenmeier H, Akkad J, et al. Telomere elongation and clinical response to androgen treatment in a patient with aplastic anemia and a heterozygous hTERT gene mutation. *Ann Hematol* 2012;91:1115-20.

45. Pérez JC, Pedraza PR, Ramírez CD, et al. Danazol as first-line therapy for aplastic anemia. *Ann Hematol* 2011;90:523-7.

*Ontvangen 28 juni 2013, geaccepteerd 17 juli 2013.*