

©Borgis

*Mirostaw Markiewicz, Sławomira Kyrz-Krzemień

Allogeniczne przeszczepienie komórek krwiotwórczych: stan obecny i perspektywy rozwoju

Allogeneic hematopoietic cell transplantation: current state and future perspectives

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
Kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. med. Sławomira Kyrz-Krzemień

Streszczenie

Allogeniczne przeszczepienie komórek krwiotwórczych stanowi standardowe leczenie chorób nowotworowych i nienowotworowych układu krwiotwórczego. Dzięki rozwojowi rejestrów dawców niespokrewnionych, aktualnie, liczba potencjalnych dawców zarejestrowanych w światowej bazie (BMDW – *Bone Marrow Donors Worldwide*) przekroczyła 17 mln. Praktycznie każdy pacjent ma obecnie możliwość znalezienia dawcy. Wyniki przeszczepień od dawców niespokrewnionych zbliżyły się do wyników przeszczepień od rodzeństwa. Wykorzystanie komórek krwiotwórczych z krwi obwodowej zamiast ze szpiku umożliwia szybszą regenerację, ale wiąże się też z większym ryzykiem przewlekłej choroby przeszczep-przeciw-gospodarzowi. U chorych starszych lub z chorobami towarzyszącymi, zamiast leczenia mieloablacyjnego, stosowane jest leczenie kondycjonujące o zredukowanej intensywności. Wznowa choroby, stanowiąca główny problem, powinna być wcześniej rozpoznawana na etapie minimalnej choroby resztkowej lub powracającego chimeryzmu biorcy i leczona immunologicznie za pomocą infuzji limfocytów dawcy. Nowoczesne metody diagnostyczne i stosowanie nowych leków przeciwinfekcyjnych w znacznym stopniu wpłynęły na zmniejszenie zachorowalności i umieralności związanych z zakażeniami.

Słowa kluczowe: allogeniczne przeszczepienie komórek krwiotwórczych, dawca niespokrewniony, choroba przeszczep-przeciw-gospodarzowi, wznowa

Summary

Allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT) constitutes a standard treatment of hematological malignant and nonmalignant disorders. The possibilities of finding a donor has been increased by use of unrelated donors, with similar results to sibling donor transplants. The use of peripheral blood stem cells, instead of bone marrow, results in faster engraftment but also in increased risk of chronic graft-versus-host disease. Reduced-intensity conditioning is used instead of high-dose myeloablative conditioning for older patients and those with comorbidities. Disease relapse is a major problem which should be detected early as minimal residual disease or recurrent recipient chimerism and managed by immunotherapy with donor lymphocyte infusions. Novel diagnostic tools and anti-microbial drugs have reduced morbidity and mortality from infections.

Key words: allogeneic hematopoietic cell transplantation, unrelated donor, graft-versus-host disease, relapse

WPROWADZENIE

Allogeniczne przeszczepienie komórek krwiotwórczych (allo-HCT – *allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation*) połączone z zastosowaniem wysoko dawkowanej chemio-radioterapii po raz pierwszy zostało przeprowadzone przez Thomasa et al. w 1957 r. w celu leczenia chorego na białaczkę w zaawansowanym stadium choroby (1). U podłoża zastosowanej wówczas koncepcji leczenia leżały wcześniejsze obserwacje zgromadzone podczas II wojny światowej, dotyczą-

ce niszczącego działania promieniowania na funkcję szpiku kostnego, jak też późniejsze badania przeprowadzone w latach 50. XX wieku, które wykazały, że dzięki przeszczepieniu komórek szpiku u napromienionych zwierząt możliwe jest zapobieganie nieodwracalnej pancytopenii. Odkrycie układu zgodności tkankowej (HLA – *Human Leukocyte Antigen*) umożliwiło właściwy dobór dawców i biorców, co przyczyniło się do obserwowanego od 1968 r. znaczącego wydłużenia czasu przeżycia chorych po przeszczepieniu (2).

Na uzyskaną poprawę wyników niewątpliwie wpływ miały również inne czynniki: wykonywanie przeszczepień w fazie remisji schorzenia, stosowanie profilaktycznego leczenia choroby przeszczep-przeciw-gospodarzowi, udoskonalenie leczenia wspomagającego. Obecnie na świecie wykonuje się rocznie > 25 tys. allo-HCT.

Głównym wskazaniem do allo-HCT jest ostra białaczka szpikowa (AML – Acute Myeloblastic Leukemia) i ostra białaczka limfoblastyczna (ALL – Acute Lymphoblastic Leukemia). W ostrej białaczce limfoblastycznej wysokiego ryzyka oraz w ostrej białaczce szpikowej w przypadku braku korzystnych rokowniczo zmian genetycznych allo-HCT jest wskazane w pierwszej remisji (CR 1). Przeszczepienie w innych stadiach choroby wiąże się z większym ryzykiem wystąpienia wznowy choroby zasadniczej, jak również powikłań okołotransplantacyjnych.

Pomimo wprowadzenia 10 lat temu do leczenia przewlekłej białaczki szpikowej (CML – *Chronic Myelogenous Leukemia*) inhibitorów kinazy tyrozyny, allo-HCT nadal pozostaje jedynym sposobem jej leczenia, umożliwiającym pełne wyleczenie. Przeszczepienie standardowo jest oferowane chorym z CML, u których leczenie inhibitorami kinazy tyrozyny okazało się nieskuteczne, przeważnie wcześniej kwalifikowani do niego są chorzy w młodszym wieku. Inne wskazania do allo-HCT to zespoły mielodysplastyczne (MDS – *Myelodysplastic Syndrome*), przewlekła białaczka limfocytowa (CLL – *Chronic Lymphocytic Leukemia*) wysokiego ryzyka, wybrani chorzy z chłoniakami wysokiego ryzyka, chorzy ze zwłóknieniem szpiku i innymi nowotworami mieloproliferacyjnymi o niekorzystnym rokowaniu. Zachęcające są wyniki leczenia z wykorzystaniem allo-HCT w szpiczaku plazmocytowym. Allo-HCT ze zredukowanym kondycjonowaniem po wcześniejszym przeszczepieniu autologicznym stanowi interesującą alternatywę u chorych ze szpiczakiem plazmocytowym, u których tradycyjnie wykonuje się pojedyncze lub tandemowe przeszczepienia autologiczne (3). Allo-HCT wykonuje się standardowo również w nienowotworowych chorobach układu krwiotwórczego, takich jak postać ciężka niedokrwistości aplastycznej (SAA – *Severe Aplastic Anemia*), nocna napadowa hemoglobinuria (PNH – *Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria*) i hemoglobinopatie. W niektórych rzadkich przypadkach wrodzonych defektów metabolicznych przeszczepienie komórek macierzystych dawcy allogenicznego może przywrócić produkcję niedoborowego enzymu i dzięki temu zlikwidować chorobę (4).

DAWCY KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH

Optymalnym dawcą jest rodzeństwo posiadające dwa identyczne z biorcą haplotypy HLA. Przeszczepienie syngeniczne, czyli od bliźniaka jednojajowego, najbezpieczniejsze z punktu widzenia immunologicznego, wiąże się jednak ze zwiększeniem ryzyka wznowy choroby, wynikającym z braku oddziaływania immunologicznego pomiędzy komórkami dawcy a biorcą (5).

Prawdopodobieństwo posiadania przez określonego chorego zgodnego dawcy wśród rodzeństwa określane jest wzorem $1 - (0,75)^n$, gdzie n oznacza liczbę rodzeństwa. W rzadkich przypadkach, gdy nie ma zgodnego rodzeństwa, udaje się znaleźć innych dawców rodzinnych lub wykonuje się allo-HCT, akceptując częściową niezgodność. Obserwowany spadek dzietności małżeństw powoduje, że dla coraz większego odsetka chorych nie znajduje się zgodnego dawcy rodzinnego.

Wykonuje się u nich przeszczepienia od dawcy niespokrewnionego. W ostatnim dwudziestoleciu liczba takich przeszczepień znamienne wzrosła (6). Stało się to możliwe dzięki dynamicznemu rozwojowi rejestrów dawców niespokrewnionych, w których liczba zarejestrowanych dawców w 2010 r. przekroczyła 15 milionów.

Najbardziej pożądanym z wielu powodów (m.in. kwestii bezpieczeństwa dawcy, przejrzystości procedur i rachunku ekonomicznego) jest rozwój rejestrów krajowych, które zgodnie z rekomendacjami Światowego Stowarzyszenia Dawców Szpiku (WMDA – *World Marrow Donor Association*) powinny utrzymywać kontrolę i nadzór nad rekrutacją dawców. Szansa na znalezienie zgodnego dawcy zależy od częstości występowania haplotypów HLA chorego w całej populacji oraz od rasy chorego – większość dawców zrekrutowanych w światowych rejestrach należy do rasy kaukaskiej. Czynione są wysiłki, zwłaszcza w USA, zmierzające do rekrutacji większej liczby dawców innych ras.

Fenotypowy dobór HLA polegający na badaniu antygenów HLA za pomocą odpowiednich surowic został zastąpiony dokładniejszymi badaniami metodami biologii molekularnej, umożliwiającymi dokładne określenie alleli HLA.

Kwestia dopuszczalności niezgodności HLA u chorych, którzy nie znajdują w pełni zgodnego dawcy nie została jeszcze ostatecznie rozstrzygnięta. Wraz z rosnącą liczbą obserwacji pojawiają się zalecenia dotyczące doboru nie tylko w HLA- A, B i DR, ale również w C, DQ i nawet DP. Wiele ośrodków dąży do przeszczepiania chorych wyłącznie od dawców w pełni zgodnych w 10/10 alleli HLA-A, B, C, DR i DQ. Udoskonalone metody typizacji umożliwiające dokładniejszy dobór dawcy wpłynęły na poprawę wyników allo-HCT od dawców niespokrewnionych, które zbliżyły się do wyników allo-HCT od rodzeństwa (7). Wykonanie procedury allo-HCT od dawcy niespokrewnionego jest poprzedzone czasochłonnym nieraz poszukiwaniem dawcy, ważne jest więc staranne zaplanowanie przeszczepienia z odpowiednim wyprzedzeniem.

ŹRÓDŁA KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH

Głównym źródłem komórek do przeszczepienia był przez wiele lat szpik kostny aspirowany w znieczuleniu ogólnym z talerza biodrowego. Szpik kostny oprócz krwiotwórczych komórek macierzystych zawiera również mezenchymalne komórki macierzyste – multiplo-

tencjalne komórki nie będące komórkami krwiotwórczymi, które mają potencjał do różnicowania się *in vitro* i *in vivo* do różnych tkanek mezenchymalnych, takich jak kość, chrząstka, tkanka tłuszczowa, ścięgna i macierz szpiku kostnego. Mezenchymalne komórki macierzyste mogą zmniejszać alloreaktywność, hamować proliferację limfocytów T i wywierać działanie immunosupresyjne, co wykazano obserwując zahamowanie ostrej choroby przeszczep – przeciw – gospodarzowi (GVHD – *Graft Versus Host Disease*) po infuzji haploidentycznych mezenchymalnych komórek macierzystych.

W latach 90. XX wieku komórki uzyskiwane nadrodzaje aferezy z krwi obwodowej po ich uprzedniej stymulacji granulocytowym czynnikiem wzrostu całkowicie wyparły aspirację szpiku kostnego w przeszczepieniach autologicznych. Podobny trend na początku XXI wieku występował w przeszczepieniach allogenicznych. Pobór komórek z krwi obwodowej umożliwia kolekcję większej liczby komórek jądrzastych, komórek CD34, limfocytów CD3 i komórek NK w porównaniu z pobieraniem ich ze szpiku; umożliwia też szybszą regenerację granulocytów i płytek. Dzięki temu uzyskuje się zmniejszenie ryzyka zakażeń oraz redukcję zapotrzebowania na przetoczenia preparatów krwiopochodnych.

Początkowo, z obawy o występowanie ostrej GVHD, allogeniczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych z krwi obwodowej (PBSCT – *Peripheral Blood Stem Cell Transplantation*) stosowano wyłącznie w przeszczepieniach rodzinnych, jednak jak wykazano w szeregu badań częstość występowania ostrej GVHD jest podobna jak po przeszczepieniu szpiku, pomimo dużej liczby limfocytów T w przeszczepianym materiale. **W związku z tym allogeniczne PBSCT jest z powodzeniem stosowane również w przeszczepieniach allogenicznych od dawców niespokrewnionych.** Większa jest jednak wówczas częstość występowania przewlekłej GVHD, dlatego też allogeniczne PBSCT stosuje się rzadziej u chorych na choroby pozanowotworowe, którzy nie odnoszą korzyści z efektu przeszczep-przeciw-białaczce (GVL – *Graft Versus Leukemia*), związanego z przewlekłą GVHD (8).

Ważne źródło krwiotwórczych komórek macierzystych dla allo-HCT stanowi krew pępowinowa (CB – *Cord Blood*), zazwyczaj przeznaczona do utylizacji. W wielu krajach działają banki zamrożonych jednostek CB, w których obecnie znajduje się prawie 0,5 mln jednostek gotowych do przeszczepienia. Korzyścią z zastosowania CB jest natychmiastowa dostępność i obniżone ryzyko GVHD, związane ze względnym niedoborem dojrzałych limfocytów T. Dlatego w przeszczepieniach CB dopuszczalny jest większy poziom niezgodności HLA między dawcą a biorcą niż w przeszczepieniach tradycyjnych. Niekorzystne jest natomiast częstsze występowanie braku wszczepu oraz wolniejsza regeneracja odpowiedzialna za większe ryzyko infekcji. Liczba potrzebnych komórek jądrzastych i komórek CD34+ przeliczona na kilogram masy ciała

biorcy jest niższa o około jeden logarytm w porównaniu ze szpikiem kostnym. Szereg badań wskazuje na znaczenie dużej liczby komórek CB, w związku z tym rekomenduje się przeszczepienie ponad 2×10^7 komórek jądrzastych na kilogram masy ciała biorcy. Stanowi to ograniczenie w zastosowaniu CB u dorosłych, gdyż objętość CB i całkowita liczba komórek są przeważnie niewielkie. Aby problem ten pokonać, stosuje się z powodzeniem jednoczasowe przeszczepienie dwóch jednostek CB (9, 10). Nie weszła natomiast do szerszej praktyki ekspansja *in vitro* mająca na celu zwiększenie liczby komórek CB. Z powodu ograniczeń związanych z niewielką liczbą komórek krwi pępowinowej, najczęściej jest wykorzystywana jako źródło komórek w przeszczepieniach u dzieci.

LECZENIE PRZYGOTOWUJĄCE DO PRZESZCZEPIENIA

Leczenie przygotowujące stosowane przed przeszczepieniem (tzw. leczenie kondycjonujące) ma na celu eradykację resztek choroby i osłabienie układu immunologicznego biorcy, w celu umożliwienia przyjęcia przeszczepu od dawcy. Z leczeniem tym związane jest istotne działanie toksyczne, którego całkowite wyeliminowanie okazało się dotychczas niemożliwe.

Od ponad 40 lat w leczeniu przygotowującym stosowane jest połączenie radioterapii – napromieniania całego ciała (TBI – *Total Body Irradiation*) w dawce łącznej 12 Gy stosowanej we frakcjach oraz cyklofosfamid (Cy) (w dawce łącznej 120 mg/kg podawanej w ciągu 2 dni) (11). Leczenie z zastosowaniem TBI jest standardowo zalecane w ALL. W celu uniknięcia potencjalnych następstw TBI, takich jak zapalenie pęcherzyków płucnych, zaćma, wtórne nowotwory, zaburzenia endokrynologiczne i zahamowanie wzrastania u dzieci, TBI w AML i MDS zostało zastąpione busulfanem (Bu) podawanym w dawce 16 mg/kg w ciągu 4 kolejnych dni przed Cy (12). Leczenie BuCy jest związane z większym ryzykiem zespołu niedrożności zatok wątrobowych (SOS – *Sinusoidal Obstruction Syndrome*), krwotocznego zapalenia pęcherza moczowego i przewlekłego GVHD. Jak wykazano, na występowanie toksycznych powikłań duży wpływ ma wysokie stężenie Bu występujące w czasie jego stosowania doustnego, czego uniknięcie jest utrudnione z powodu zróżnicowanego stopnia wchłaniania z przewodu pokarmowego. Dlatego korzystniejsze jest stosowanie Bu w formie dożylniej.

Jak wykazały badania, dożylnie stosowanie Bu wpływa na zmniejszenie ryzyka SOS i obniżenie umieralności związanej z przeszczepieniem (TRM – *Transplant Related Mortality*) (13). W nowoczesnych programach leczniczych w celu ograniczenia toksyczności zamiast Bu stosuje się treosulfan, a dodatkowe działanie immunosupresyjne uzyskuje się poprzez równoległe zastosowanie analogu zasad purynowych, np. fludarabiny.

W SAA najczęściej stosowane jest standardowe leczenie składające się z 200 mg/kg Cy w połączeniu z globuliną anty-tymocytarną (ATG).

Kondycjonowanie o zredukowanej intensywności

Pomimo że intensywne leczenie kondycjonujące wpływa na zmniejszenie ryzyka wznowy choroby po przeszczepieniu, nie ma ono wpływu na wydłużenie czasu przeżycia, gdyż większa toksyczność prowadzi do większej TRM (14).

Koncepcja tzw. kondycjonowania o zredukowanej intensywności (RIC – *Reduced-Intensity Conditioning*) polega na wykorzystaniu siły leczniczej efektu antybiałkowego wywieranego przez limfocyty T dawcy, a w mniejszym stopniu działania cytotoksycznego leczenia kondycjonującego. Głównym efektem leczenia RIC jest immunosupresja, mająca na celu ułatwienie przyjęcia przeszczepu poprzez przełamanie obrony immunologicznej biorcy. **Efekt antybiałkowy może być w razie potrzeby nasilony po przeszczepieniu za pomocą infuzji limfocytów dawcy (DLI – Donor Lymphocyte Infusion).** DLI po raz pierwszy zostało bardzo skutecznie zastosowane u chorych na CML, u których doszło do nawrotu choroby po konwencjonalnym allo-HCT (15). Od tamtego czasu jest stosowane w wielu innych chorobach rozrostowych układu krwiotwórczego, przede wszystkim w chłoniakach złośliwych oraz w CLL. Leczenie RIC jest związane z mniejszą toksycznością w porównaniu z konwencjonalnym leczeniem kondycjonującym, dzięki temu umożliwia wykonanie przeszczepienia u chorych w starszej grupie wiekowej oraz u chorych z chorobami towarzyszącymi, u których zastosowanie leczenia mieloablacyjnego jest przeciwwskazane. W skład leczenia RIC najczęściej wchodzi analogi zasad purynowych. Przykładem maksymalnie zredukowanego leczenia RIC, po którym dochodzi do wszczepu, jest połączenie TBI w dawce jedynie 2 Gy z fludarabiną. Inne przykładowe protokoły RIC to połączenia fludarabiny z Bu w dawce 8 mg/kg i ATG, z Cy lub z melfalanem. Ważnym elementem leczenia RIC jest stosowanie immunosupresji po przeszczepieniu, np. w postaci cyklosporyny (CsA) i mykofenolanu mofetilu (CellCept). Obniżona intensywność kondycjonowania umożliwia przetrwanie w pewnym zakresie immunokompetentnych komórek biorcy do momentu przeszczepienia, co wiąże się z większym ryzykiem braku wszczepu lub niepełnego wszczepu. W niektórych ośrodkach przeszczepienia z zastosowaniem RIC wykonuje się ambulatoryjnie, często chorzy wymagają jednak późniejszej hospitalizacji z powodu infekcji lub GVHD (16).

Allo-HCT z użyciem RIC może być stosowane w przypadku braku skuteczności przeszczepienia autologicznego. Inną możliwością jest zastosowanie przeszczepienia tandemowego: najpierw autologicznego, a następnie allo-HCT z użyciem RIC, w celu zmniejszenia TRM poprzez rozdzielanie wysoko dawkowanego leczenia cytotoksycznego od allogenicznej immunoterapii, co po raz pierwszy zostało zastosowane u chorych na szpiczaka plazmocytozy.

LECZENIE WSPOMAGAJĄCE

Podczas fazy pancytopenii po kondycjonowaniu mieloablacyjnym chorzy są niezwykle podatni na in-

fekcje i w związku z tym muszą przebywać w sterylnym środowisku, np. w warunkach przepływu laminarnego i odwrotnej izolacji. Rutynowo stosuje się u nich profilaktykę przeciwniekcyjną przeciw bakteriom, wirusom i grzybom. Ponadto stosuje się leczenie substytucyjne koncentratami krwinek czerwonych i płytek krwi. W razie potrzeby stosuje się leki przeciwbólowe i żywienie pozajelitowe. W celu zapobiegania powikłaniom wątrobowym stosuje się doustnie kwas ursodeoksycholowy. Aby przyspieszyć regenerację granulocytów stosuje się G-CSF, który może jednak opóźniać odnowę płytek i może zwiększać ryzyko GVHD. Erytropoetyna przyspiesza odnowę układu czerwokrwińkowego i umożliwia zmniejszenie liczby przetoczeń, ale zwiększa koszt procedury i nie jest stosowana standardowo.

ZAKAŻENIA

Gram-dodatnie bakterie, takie jak paciorkowce alfa-hemolizujące, koagulazo-ujemne gronkowce i ziarniaki stanowią najczęstszą przyczynę zakażeń we wczesnym okresie po allo-HCT. W okresie tym problemem bywają również zakażenia grzybicze, zwłaszcza inne niż *Candida albicans*, które zazwyczaj rozpoznaje się z opóźnieniem. Chociaż diagnostyka mykologiczna oparta o metodę PCR nie weszła jeszcze do praktyki klinicznej, pomocne bywają test galaktomannanowy i wykrywanie antygenów grzybiczych w krwi. W leczeniu dysponujemy już nie tylko obciążoną znacznymi działaniami ubocznymi amfoterycyną B, ale też jej znacznie lepiej tolerowanymi preparatami liposomalnymi, niestety kosztownymi. Do użytku weszły też nowe leki przeciwgrzybicze, takie jak kaspofungina i nowsze leki azolowe, wikonazol i posakonazol.

Częstym problemem infekcyjnym po ustąpieniu pancytopenii jest wirus cytomegalii (CMV). Dzięki nowoczesnemu podejściu diagnostycznemu, opartemu na wczesnym wykrywaniu antygenu CMV metodą PCR, reaktywację CMV można wykrywać i leczyć zanim dochodzi do rozwoju choroby CMV. Najczęstszą przyczynę zakażenia CMV stanowi reaktywacja latentnego wirusa u CMV seropozytywnego chorego lub transmisja CMV od seropozytywnego dawcy do seronegatywnego chorego, dlatego optymalna jest sytuacja, gdy stan serologiczny dawcy i biorcy jest identyczny. W ramach profilaktyki przeciwwirusowej przetacza się filtrowane preparaty krwiopochodne od CMV seronegatywnych krwiodawców oraz stosuje się immunoglobuliny, a w leczeniu przeciwwirusowym stosuje się gancyklowir, foskawir, cydofowir lub doustnie walgancyklowir. Wirus Epstein-Barr (EBV) może powodować poprzyszczepową chorobę limfoproliferacyjną. Czynnikiem ryzyka są zastosowanie surowicy anty-tymocytarnej i przeszczepienie od dawcy niespokrewnionego. Monitorowanie wirerii EBV za pomocą metody PCR umożliwia wczesne podjęcie leczenia – redukcję immunosupresji, zastosowanie rituximabu (przeciwciała anty-CD20) i DLI.

Pierwszorzędne znaczenie dla zapobiegania infekcjom po allo-HCT ma rekonstrukcja immunologiczna. Największe ryzyko infekcji występuje u chorych z GVHD, ale i u pozostałych jest ono 20-krotnie większe niż w populacji ogólnej. Od 20 do 50% chorych po upływie 3 lat od allo-HCT nadal wymaga leczenia immunosupresyjnego, co powoduje że ryzyko powikłań infekcyjnych w tej grupie chorych jest szczególnie duże (17).

CHOROBA PRZESZCZEP-PRZECIW-GOSPODARZOWI (GVHD)

Ostra i przewlekła GVHD stanowią główne powikłania allo-HCT. W patofizjologii ostrej GVHD limfocyty T dawcy rozpoznają cząsteczki HLA biorcy po ich prezentacji przez komórki prezentujące antygen. Prowadzi to do uwolnienia interleukiny-2 i aktywacji cytotoksycznych limfocytów T, komórek NK i makrofagów. Głównym celem ataku są skóra, jelito i wątroba. Najważniejszy czynnik ryzyka stanowi niezgodność w układzie zgodności tkankowej HLA, ale ważne są też słabe antygeny zgodności tkankowej odpowiedzialne m.in. za większe ryzyko GVHD, w przypadku gdy dawcą jest kobieta, a biorcą mężczyzna.

Przewlekła GVHD pojawia się najczęściej od 3 miesięcy do roku po allo-HCT. Przypomina ona ciężką chorobę autoimmunologiczną, np. twardzinę układową lub zespół Sjögrena. Występują takie objawy jak: liszajowate i twardzinopodobne zmiany skórne, zapalenie błony śluzowej, zespół suchości, zespół suchego oka, zwężenie przełyku i pochwy, cholestazyczna niewydolność wątroby, zarostowe zapalenie oskrzelików i zapalenie mięśni. Występować może wyniszczenie i niedobór odporności, dodatkowo zwiększające ryzyko infekcji, zwłaszcza powodowanych przez bakterie Gram-dodatnie. Początek przewlekłej GVHD może być progresywny w przypadku płynnego przejścia ostrej GVHD w formę przewlekłą, może pojawić się po okresie bezobjawowym (*quiescent*) lub *de novo* bez poprzedzających objawów ostrej GVHD. Najgorzej rokuje postać progresywna przewlekłej GVHD.

W celu zmniejszenia ryzyka GVHD stosuje się profilaktyczną immunosupresję, najczęściej przy zastosowaniu cyklosporyny A (CsA) i metotreksatu. Skuteczną formę profilaktyki stanowi usunięcie limfocytów T z przeszczepianego materiału (T-deplecja), jednak wiąże się ona ze zwiększonym ryzykiem braku wszczepu i wznowy choroby. W przeszczepieniach krwi pępowinowej zamiast mielotoksycznego metotreksatu, przedłużającego czas regeneracji, stosuje się prednizolon. Nowe schematy immunosupresyjne uwzględniają inny niż CsA inhibitor kalcyneuryny-takrolimus, makrolidowy immunosupresant-sirolimus, oraz mykofenolan mofetilu. Ważnym elementem immunosupresji stosowanej w allo-HCT od dawcy niespokrewnionego jest podanie przed przeszczepieniem ATG, której skuteczne stężenie w surowicy utrzymuje się przez wiele tygodni od podania, dzięki czemu wpływa nie tylko na limfocyty T chorego, ale i dawcy (18). Objawem niepo-

żądanym związanym z zastosowaniem ATG jest zwiększone ryzyko infekcji.

W przypadku rozwinięcia się objawów ostrej GVHD standardowo stosuje się skuteczny w większości przypadków metylprednizolon w dawce 2-5 mg/kg/d. W przypadku steroidooporności ryzyko niepowodzenia jest duże. Leczenie drugoliniowe składa się z ATG, przeciwciał przeciwko IL-2, przeciwciał przeciwko receptorowi IL-2 lub przeciwciał przeciwko czynnikowi martwicy nowotworu (TNF). W razie dostępności można zastosować fotouczulacz psoralen i promieniowanie ultrafioletowe w postaci ekstrakorporalnej fotoferezy.

Leczenie przewlekłego GVHD składa się z CsA i steroidów. U chorych nieodpowiadających na to leczenie można zastosować takrolimus, talidomid, mykofenolan mofetilu, sirolimus i napromieniowanie układu limfatycznego dawką 1 Gy.

WZNOWA CHOROBY

Wobec lepszego leczenia wspomagającego i bardziej skutecznego zapobiegania GVHD, wznowa choroby podstawowej stanowi najważniejszą przyczynę braku powodzenia allo-HCT. **Ryzyko wznowy jest zależne od rodzaju choroby, jej statusu w momencie przeszczepienia oraz od zastosowanej profilaktyki GVHD** (im bardziej skuteczna immunosupresja, tym większe ryzyko wznowy). Najdłuższy czas przeżycia obserwuje się w przypadku występowania umiarkowanej ostrej lub ograniczonej przewlekłej GVHD, gdyż ryzyko wznowy jest wówczas najmniejsze (5).

Chociaż wznowę po allo-HCT można leczyć za pomocą DLI, dobre rokowanie dotyczy zazwyczaj chorych z CML. We wznowie ostrej białaczki po allo-HCT można osiągnąć odpowiedź, ale u większości chorych jest ona tylko przejściowa.

W CML, chorzy ze wznową molekularną, czyli z ponowną obecnością transkryptu bcr/abl w badaniu PCR, rokują lepiej niż chorzy ze wznową hematologiczną. U chorych w bardziej zaawansowanych stadiach wznowy CML, w fazie akceleracji lub transformacji blastycznej, rokowanie jest jeszcze gorsze. Wznowa powinna być wykrywana jak najwcześniej, wtedy gdy szansa na skuteczną immunoterapię po allo-HCT jest największa. Alternatywą dla oznaczania specyficznego dla choroby markera jest badanie chimeryzmu poprzyszczepowego. Służy do tego metoda PCR z wykorzystaniem krótkich tandemowych powtórzeń (STR – *Short Tandem Repeats*). Celem allo-HCT jest uzyskanie pełnego chimeryzmu dawcy. Stwierdzenie powracającego lub narastającego chimeryzmu biorcy, podobnie jak pojawienie się minimalnej choroby resztkowej, może zwiastować nawrót choroby (19), w takim przypadku wskazana jest adoptywna immunoterapia w postaci redukcji leczenia immunosupresyjnego lub zastosowania DLI. Badanie chimeryzmu jest ważne również dla przewidywania i analizy braku wszczepu i ryzyka GVHD.

Efekt ubocznym DLI może być GVHD i pancytopenia. Zastosowanie w procedurze DLI eskalowanych dawek limfocytów T jest równie skuteczne jak wyso-

kodawkowane DLI, natomiast niesie ze sobą mniejsze ryzyko GVHD (20).

INDYWIDUALIZACJA PROCEDURY PRZESZCZEPOWEJ

Dzięki dostępności zróżnicowanych schematów leczenia kondycjonującego, różnych źródeł komórek oraz możliwości wyboru profilaktyki GVHD, w ostatnich latach coraz szerzej stosowana jest indywidualizacja procedury przeszczepowej. Wybór leczenia kondycjonującego uzależniony jest od wieku chorego, choroby podstawowej i chorób towarzyszących. Kondycjonowanie mieloablacyjne odznacza się silnym działaniem cytotoksycznym jak też silnym działaniem immunosupresyjnym. Leczenia RIC są zróżnicowane co do siły działania cytotoksycznego i immunosupresyjnego, są one dobierane w zależności od choroby podstawowej i oceny ryzyka braku wszczepu.

Wybór źródła komórek również jest uzależniony od rozpoznania i rodzaju zastosowanego leczenia kondycjonującego. W schorzeniach nienowotworowych, dążąc do uniknięcia przewlekłej GVHD preferuje się pobór szpiku kostnego. W razie zastosowania leczenia RIC preferuje się przeszczepienie komórek z krwi obwodowej z uwagi na dążenie do przeszczepienia dużej liczby komórek zdolnej do przełamania odporności biorcy i uzyskania wszczepu.

Rodzaj profilaktyki GVHD uzależniony jest od rozpoznania, rodzaju leczenia kondycjonującego i źródła komórek. Profilaktyka GVHD powinna być bardziej efektywna w chorobach nienowotworowych, a mniej intensywna wówczas, gdy np. przeszczepiono małą liczbę komórek.

NOWE WSKAZANIA DO PRZESZCZEPIENIA

U chorych z przerzutowym guzem litym można zastosować immunoterapię z allo-HCT. Obecność efektu przeszczep-przeciw-nowotworowi wykazana została w raku nerki, gruczolakoraku okrężnicy, w przerzutowym raku sutka, jajnika, gruczołu krokowego i trzustki. W celu zmniejszenia TRM u chorych stosowano leczenie RIC, uzyskując odpowiedź, która w części przypadków była całkowita (21). Obecność mniej niż 3 przerzutów i wartość wskaźnika Karnofskiego ≥ 70 stanowią korzystne czynniki rokownicze (22). Czas przeżycia jest dłuższy u chorych, u których w następstwie DLI dochodzi do rozwoju przewlekłego GVHD.

PRZESZCZEPIENIE KRWIOTWÓRCZYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH W MEDYCYNIE REGENERACYJNEJ

Krwiotwórcze komórki macierzyste odznaczają się plastycznością, tzn. mogą z nich powstawać nie tylko komórki krwi. W odpowiednich warunkach krwiotwórcze komórki macierzyste mogą zostać zmuszone do przekształcenia się w komórki różnych tkanek, takich jak mięsień sercowy, kość lub naczynia krwionośne (23). Nauka zajmująca się plastycznością komórek macierzystych dopiero zaczyna się obecnie rozwijać, ale już wzbudza nadzieję na zrewolucjonizowanie sposobu myślenia o przeszczepieniach i regeneracji narządów.

WNIOSKI

Procedura allo-HCT z eksperymentalnej metody leczenia chorych w końcowej fazie białaczki przekształciła się w rutynową procedurę stosowaną u chorych z różnymi schorzeniami hematologicznymi. Umiejętność pobierania i przeszczepiania krwiotwórczych komórek macierzystych umożliwia dzisiaj wyleczenie wielu chorych na choroby nowotworowe i nienowotworowe nieuleczalne innymi metodami. Dzięki rozwojowi rejestrów dawców niespokrewnionych leczenie z zastosowaniem allo-HCT może być obecnie oferowane nie tylko chorym posiadającym zgodne w HLA rodzeństwo, ale prawie każdemu potrzebującemu choremu. Obserwowany wzrost liczby przeszczepień komórek pozyskiwanych z krwi obwodowej wynika z pożądanej, szybszej niż w przypadku przeszczepień szpiku, regeneracji układu krwiotwórczego i korzystnego w chorobach rozrostowych nasilonego efektu GVL, związanego jednak z częstszym występowaniem przewlekłego GVHD. Chorzy w starszej grupie wiekowej oraz chorzy z chorobami współistniejącymi mogą być leczeni allo-HCT, dzięki zastosowaniu przygotowania o zredukowanej intensywności. Głównym problemem pozostaje wznowa choroby, lecz gdy jest wykryta wcześniej dzięki badaniu mieszanego chimeryzmu lub minimalnej choroby resztkowej, można ją skutecznie leczyć poprzez interwencję immunologiczną z DLI. Wyniki prowadzonych badań wskazują, że w przyszłości będą nowe sposoby klinicznego zastosowania krwiotwórczych komórek macierzystych.

PIŚMIENNICTWO

1. Thomas ED, Lochte HL Jr, Lu WC et al.: Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med* 1957; 257: 491-6.
2. Bach FH, Albertini RJ, Joo P et al.: Bone-marrow transplantation in a patient with the. Wiskott-Aldrich syndrome. *Lancet* 1968; 2: 1364-6.
3. Rotta M, Storer BE, Sahebi F et al.: Long-term outcome of patients with multiple myeloma after autologous hematopoietic cell transplantation and nonmyeloablative allografting. *Blood* 2009; 113: 3383-3391.
4. Peters C, Steward CG, National Marrow Donor Program et al.: Hematopoietic cell transplantation for inherited metabolic diseases: an overview of outcomes and practice guidelines. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31: 229-39.
5. Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM et al.: Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood* 1990; 75: 555-62.
6. Hows J, Bradley BA, Gore S et al.: Prospective evaluation of unrelated donor bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1993; 12: 371-80.

7. Ringdén O, Schaffer M, Le Blanc K et al.: Which donor should be chosen for hematopoietic stem cell transplantation among unrelated HLA-A, -B, and -DRB1 genomically identical volunteers? *Biol Blood Marrow Transplant* 2004; 10: 128-34.
8. Bensinger WI, Storb R: Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Rev Clin Exp Hematol* 2001; 5: 67-86.
9. de Lima M, Shpall E. Strategies for widening the use of cord blood in hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2006; 91: 584-7.
10. Ballen KK: New trends in umbilical cord blood transplantation. *Blood* 2005; 105: 3786-92.
11. Ferry C, Socie G: Busulfan-cyclophosphamide versus total body irradiation-cyclophosphamide as preparative regimen before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia: what have we learned? *Exp Hematol* 2003; 31: 1182-6.
12. Tutschka PJ, Copelan EA, Klein JP: Bone marrow transplantation for leukemia following a new busulfan and cyclophosphamide regimen. *Blood* 1987; 70: 1382-8.
13. Kashyap A, Wingard J, Cagnoni P et al.: Intravenous versus oral busulfan as part of a busulfan/cyclophosphamide preparative regimen for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: decreased incidence of hepatic venoocclusive disease (HVOD), HVOD-related mortality, and overall 100-day mortality. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002; 8: 493-500.
14. Clift RA, Buckner CD, Appelbaum FR et al.: Allogeneic marrow transplantation in patients with acute myeloid leukemia in first remission: a randomized trial of two irradiation regimens. *Blood* 1990; 76: 1867-71.
15. Kolb HJ, Mittermüller J, Clemm CH et al.: Donor leukocyte transfusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients. *Blood* 1990; 76: 2462-5.
16. McSweeney PA, Niederwieser D, Shizuru JA et al.: Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects. *Blood* 2001; 97: 3390-400.
17. Savani BN, Griffith ML, Jagasia S, Lee SJ: How I treat late effects in adults after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2011; 117: 3002-3009.
18. Remberger M, Storer B, Ringden O et al.: Association between pretransplant Thymoglobulin and reduced non-relapse mortality rate after marrow transplantation from unrelated donors. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29: 391-7.
19. Mattsson J, Uzunel M, Tammik L et al.: Leukemia lineage-specific chimerism analysis is a sensitive predictor of relapse in patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia* 2001; 15: 1976-85.
20. Dazzi F, Szydlo RM, Craddock C et al.: Comparison of single-dose and escalating-dose regimens of donor lymphocyte infusion for relapse after allografting for chronic myeloid leukemia. *Blood* 2000; 95: 67-71.
21. Childs R, Chernoff A, Contentin N et al.: Regression of metastatic renal-cell carcinoma after nonmyeloablative allogeneic peripheral-blood stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2000; 343: 750-8.
22. Barkholt L, Bregni M, Remberger M et al.: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for metastatic renal carcinoma in Europe. *Ann Oncol* 2006; 17: 1134-40.
23. Li Zh, Liao W, Cui Xi et al.: Intravenous transplantation of allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells and its directional migration to the necrotic femoral head. *Int J Med Sci* 2011; 8: 74-83.

otrzymano/received: 24.03.2011
 zaakceptowano/accepted: 11.05.2011

Adres/address:
 *Miroslaw Markiewicz
 Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku SUM
 ul. Dąbrowskiego 25, 40-032 Katowice
 tel.: (32) 256-28-58
 e-mail: klinhem@sum.edu.pl