

MARIA BIENIASZEWSKA, WITOLD PREJZNER, WANDA KNOPIŃSKA-POŚLUSZNY,
AGNIESZKA PIEKARSKA, GRAŻYNA MOSZKOWSKA*, MICHAŁ TASZNER,
ANDRZEJ HELLMANN

**ALLOGENICZNE TRANSPLANTACJE KOMÓREK
PROGENITOROWYCH HEMOPOEZY W GDAŃSKIM OŚRODKU
TRANSPLANTACYJNYM W LATACH 1994 – 2009**

ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN GDAŃSK
TRANSPLANTATION CENTER, YEARS 1994 – 2009

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
kierownik: prof. dr Andrzej Hellmann

* Zakład Immunologii Klinicznej i Transplantologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
kierownik: dr hab. Piotr Trzonkowski

Celem pracy była prezentacja rozwoju i dorobku gdańskiego ośrodka transplantacji szpiku w okresie piętnastu lat działalności. Zaprezentowano wzbogacające się z każdym rokiem doświadczenie w zakresie przeszczepiania komórek progenitorowych hematopojezy od dawców rodzinnych. Przedstawiono także zagadnienia dotyczące transplantacji szpiku od dawców niespokrewnionych, które rozpoczęto przeprowadzać od roku 2001. Omówiono zagadnienia wskazań do transplantacji i ich zmiany, procedurę kwalifikacji do przeszczepienia oraz poszukiwań dawców. Zaprezentowano również występujące u chorych powikłania związane z przeszczepieniem oraz podsumowano wyniki przeprowadzonych transplantacji.

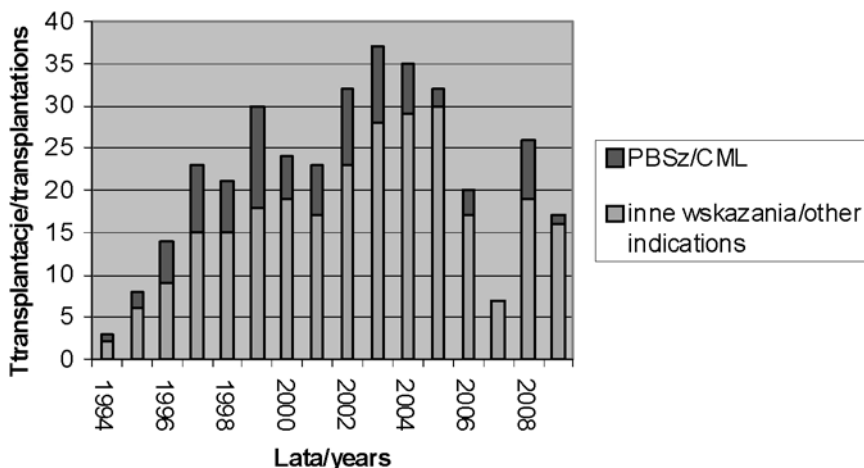
W roku 1999 na łamach „Annales Academiae Medicae Gedanensis” przedstawiliśmy 5-letni dorobek gdańskiego ośrodka transplantacji szpiku, podkreślając ogromny postęp, jaki dokonał się w tej dziedzinie [7]. Następnich 10 lat przyniosło dalsze zmiany, także w naszym ośrodku. W sytuacji gdy tylko 30% chorych posiada dawcę rodzinnego, rozpoczęliśmy przeszczepianie komórek progenitorowych hemopojezy od dawców niespokrewnionych. Procedura ta wymaga precyzyjnego przygotowania logistycznego i skoordynowanej współpracy wielośrodkowej, często międzynarodowej, szczególnie w okresie przygotowań i we wczesnej fazie transplantacyjnej. Ośrodek nasz uzyskał akredytację Europejskiej Grupy ds. Transplantacji Krwi i Szpiku (European Group for Blood and Marrow Transplantation EBMT) do wykonywania tego typu przeszczepień. Nakłada to na nas konieczność przestrzegania standardów określanych przez

tę organizację. Wraz z wdrożeniem tego rodzaju działalności staliśmy się również ośrodkiem świadczącym usługę pobierania komórek progenitorowych od dawców niespokrewnionych dla innych ośrodków, w tym także zagranicznych. Poza rozszerzeniem rodzajów procedur przeszczepowych, zasadniczej zmianie uległ również profil wskazań do transplantacji. Było to wynikiem przełomu, jaki dokonał się w ostatnich latach w terapii przewlekłej białaczki szpikowej. Podążając za aktualnym stanem wiedzy, rozwojem farmakoterapii, metod diagnostycznych, staramy się również dodać swój własny innowacyjny wkład, co stało się możliwe dzięki współpracy z jednostkami badawczymi naszej uczelni. Procedura przeszczepień od dawców rodzinnych była przez nas szczegółowo przedstawiona w publikacji z roku 1999 i w jej zasadniczych założeniach nie zaszły istotne zmiany, w niniejszym opracowaniu przedstawimy zagadnienia związane głównie z transplantacjami komórek hemopoetycznych pobranych od dawców niespokrewnionych.

MATERIAŁ I METODYKA

Pacjenci

Pierwszego przeszczepienia allogenicznego szpiku pobranego od dawcy rodzinnego (related donor – RD) dokonano w Gdańsku w 1994 roku.[6] Siedem lat później – w grudniu 2001 roku, przeprowadzono pierwszą transplantację szpiku od w pełni zgodnego w układzie HLA (Human Leukocyte Antigens) dawcy niespokrewnionego (match unrelated donor – MUD), powołując tym samym czwarty, polski ośrodek dokonujący tego rodzaju przeszczepień. Pierwszym biorcą



Ryc. 1. Stosunek ilości transplantacji wykonywanych z powodu przewlekłej białaczki szpikowej (PBSz) do innych wskazań w okresie ostatnich 15 lat

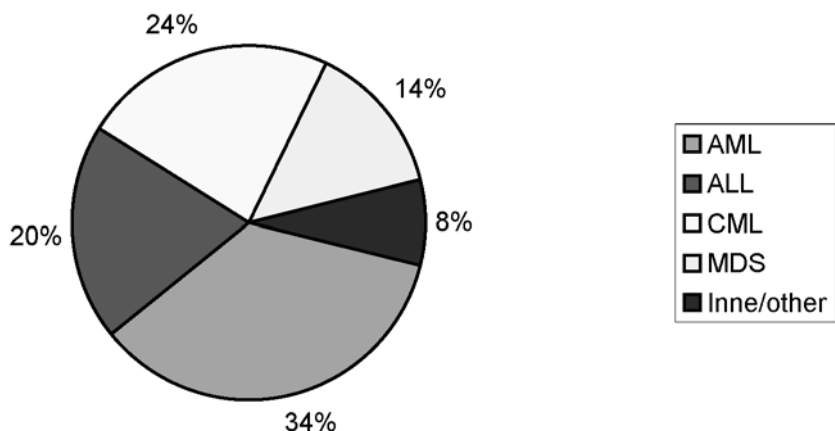
Fig. 1. CML / other indication for transplantation ratio in the last 15 years

przeszczepu był chory z ostrą białaczką limfoblastyczną, dawcą młody mężczyzna, Polak. Od 2001 roku liczba tego typu allotransplantacji systematycznie rośnie. Kontynuacja programu przeszczepień od MUD powoduje, że stosunek ilościowy RD do MUD zbliża się w roku bieżącym do tendencji światowych, a więc do zrównania liczby obu procedur. W roku 2007 oddział przeszczepowy został poddany remontowi, co spowodowało chwilowe zatrzymanie programu transplantacyjnego. Wymieniono wówczas urządzenia oczyszczające powietrze w obrębie sal chorych. Podkreślenia wymaga fakt, że przeważającą większość prac remontowych zrealizowano ze środków społecznych zgromadzonych z dobrowolnych wpłat na fundusz Gdańskiego Stowarzyszenia na Rzecz Rozwoju Transplantacji Szpiku, przy zaangażowaniu służb technicznych Uczelni.

W latach 2004–2006 zanotowano również spadek ilości przeszczepień w stosunku do lat poprzednich. Wynikało to z zasadniczej zmiany terapii przewlekłej białaczki szpikowej (PBSz).[8] Wprowadzenie do leczenia inhibitorów kinazy tyrozynowej spowodowało znaczne ograniczenie stosowania przeszczepiania szpiku, jako terapii pierwszego rzutu u chorych z tym rozpoznaniem oraz innymi, w których z powodzeniem zastosowano terapię celowaną [5]. Liczbę przeszczepień allogenicznych w PBSz w stosunku do ogólnej ilości przedstawiono na rycinie 1.

Przeszczepienia szpiku dokonuje się obecnie w PBSz w przypadku oporności na imatynib (Glivec) oraz u chorych, u których rozpoznanie zostaje postawione w fazie akceleracji lub kryzy blastycznej. Aktualnie najliczniejszą grupę chorych stanowią pacjenci z rozpoznaniem ostrej białaczki. Najlepsze rezultaty transplantacji uzyskuje się u chorych w całkowitej remisji (CR) choroby, uzyskanej w wyniku chemioterapii. W wyjątkowych przypadkach, u młodych chorych opornych na chemioterapię podejmuje się próbę przeszczepienia szpiku bez uzyskanej całkowitej remisji choroby. Wyniki transplantacji u pacjentów bez CR nie są jednak zachęcające i w rezultacie mogą rzutować na ogólny wynik ośrodka. Dzięki działalności EBMT, gromadzącej sprawozdania z praktycznie wszystkich ośrodków europejskich oraz dzięki prowadzonym badaniom porównawczym, wskazania do transplantacji są coraz bardziej precyzyjne i opierają się na wieloczynnikowej analizie ryzyka wznowy choroby oraz ryzyka transplantacyjnego. Jednym z kluczowych elementów oceny ryzyka wznowy jest badanie cytogenetyczne w okresie rozpoznania i obecność lub brak aberracji chromosomalnych. Należy podkreślić, że nie każdy chory z rozpoznaniem ostrej białaczki może odnieść korzyść z transplantacji. Istnieje grupa chorych, u których zastosowanie klasycznej chemioterapii podtrzymującej remisję daje efekt porównywalny z przeszczepieniem, przy zdecydowanie mniejszym ryzyku. W latach 2001–2009 chorzy z rozpoznaniem ostrej białaczki stanowili ponad połowę pacjentów poddanych transplantacji. Coraz częściej poddawani są procedurze przeszczepienia chorzy z zespołami mielodysplastycznymi (myelodysplastic syndrome – MDS), 14% w tym samym okresie czasu. Tu także decydującą rolę odgrywa coraz lepiej sprecyzowana skala prognostyczna. Inne, niekiedy rzadkie, schorzenia stanowiły wskazanie do 8% przeszczepień. Wskazania, z powodu których dokonano transplantacji allogenicznych od MUD przedstawiono na rycinie 2.

Najliczniejszą grupę poddanych przeszczepowi stanowią osoby pomiędzy 20 a 50 rokiem życia, jednak średni wiek chorych poddanych transplantacji od dawców rodzinnych uległ znacznemu przesunięciu. W 1999 roku wynosił on 30,4 lat (zakres 16 – 48 lat), w ostatnich 5 latach wzrósł do 42,2 lat (zakres 18 – 60 lat). Przeprowadzenie transplantacji u osób starszych lub obciążonych współistniejącymi schorzeniami możliwe jest dzięki zastosowaniu postępowania przygotowawczego (chemioterapii lub radioterapii) o zredukowanej intensywności [16].



Ryc. 2. Wskazania do allotransplantacji komórek progenitorowych hemopoety od dawców niespokrewnionych (AML – ostra białaczka szpikowa, ALL – ostra białaczka limfoblastyczna, CML – przewlekła białaczka szpikowa, MDS – zespół mielodysplastyczny, CLL – przewlekła białaczka limfocytowa, HD – ziarnica złośliwa, SAA – ciężka postać anemii aplastycznej, MM – szpiczak mnogi)

Fig. 2. Indications for match unrelated donor transplantation (AML – acute myeloid leukemia, ALL – acute lymphoblastic leukemia, CML – chronic myeloid leukemia, MDS – myelodysplastic syndromes, CLL – chronic lymphocytic leukemia, HD – Hodgkin's disease, SAA – severe aplastic anemia, MM – multiple myeloma)

Kluczową rolę w powodzeniu tego typu transplantacji przypisuje się efektowi immunologicznemu – przeszczep przeciwko białaczce (graft versus leukaemia – GvL).

METODYKA

Poszukiwania dawcy niespokrewnionego

W przypadku braku dawcy rodzinnego zgodnego w układzie HLA rozpoczyna się procedurę poszukiwania dawcy niespokrewnionego. Procedurę uruchamia ośrodek przeszczepowy kwalifikujący chorego do transplantacji. Kwalifikacja odbywa się komisyjnie w oparciu o szczegółową analizę ryzyka wznowy lub progresji choroby oraz ryzyka transplantacyjnego. Zgłoszenie poszukiwań wraz z wynikiem oznaczenia u chorego antygenów układu HLA klasy I i II przesyłane jest do Poltransplantu, który jest centrum koordynującym poszukiwania. Poltransplant powierza dobór dawcy wybranemu ośrodkowi poszukującemu, przekazując jednocześnie do ośrodka przeszczepowego informację o potencjalnych, zgodnych dawcach, po wstępnym przeszukaniu bazy dawców. Baza ta ma charakter międzynarodowy, jest dostępna elektronicznie i zawiera dane dotyczące antygenów HLA dawców we wszystkich rejestrach, w tym także sześciu polskich. W interesie rejestru jest pełne udostępnienie własnych zasobów. Ponieważ antygeny HLA oznaczane są różnymi metodami o mniejszym i większym stopniu rozdzielczości, większość ośrodków poszukujących dawcy, do dalszych badań wybiera tych

potencjalnych dawców, u których wykonano badania w szerszym zakresie i dokładniejszą metodą. Daje to bowiem szansę na szybszy dobór zgodnego dawcy. Ponadto Poltransplant zaleca sprawdzenie w pierwszym rzędzie zgodności dawców polskich. Od kilku lat prowadzeniem poszukiwań zajmują się 4 akredytowane przez Poltransplant ośrodki poszukujące, dysponujące odpowiednio wyszkoloną kadrą i zasobami laboratoryjnymi. Po uzyskaniu zlecenia ośrodek poszukujący ma obowiązek przeprowadzenia tzw. „potwierdzającego” badania antygenów HLA u chorego. Po wykonaniu badań baza dawców sprawdzana jest po raz kolejny, dokonywany jest wybór potencjalnie zgodnego dawcy, a do rejestru, który wprowadził dane dawcy, kierowana jest prośba o przesłanie próbki jego krwi. W tym momencie potencjalny dawca jest informowany o możliwości donacji. Ośrodek przeszczepowy jest zwykle informowany o poszczególnych etapach poszukiwań, aż do ostatecznego potwierdzenia zgodności. Na tym etapie uzyskuje się również dane dotyczące wieku i płci dawcy oraz rejestru, który pozyskał dawcę. Mimo akcji propagujących i powoli rozszerzających się rejestrów polskich, nadal większość (71%) dawców dla pacjentów przeszczepianych w naszym ośrodku pochodziła z rejestrów zagranicznych, głównie z niemieckiego. Należy dodać, że w przypadku braku potencjalnych dawców w bazie danych dokonywane jest również sprawdzenie bazy dostępnych jednostek krwi pępowinowej. Choć zakłada się, że jedna jednostka krwi pępowinowej nie jest wystarczającym materiałem przeszczepowym dla dorosłego biorcy, w nielicznych przypadkach udaje się znaleźć jednostkę o wystarczającej komórkowości. Dotyczyło to również jednego z naszych biorców – młodej chorej ze wznową ostrej białaczki, u której po uzyskaniu drugiej remisji choroby, z sukcesem przeprowadzono transplantację krwi pępowinowej, pochodzącej ze szwajcarskiego banku krwi pępowinowej [16].

Po podjęciu decyzji o wszczęciu procedury transplantacyjnej, ośrodek przeszczepowy zwraca się do rejestru z prośbą o pobranie od wybranego dawcy materiału przeszczepowego. Wybór materiału – komórek macierzystych pobranych z krwi obwodowej (peripheral blood stem cells PBSC) lub szpiku (bone marrow – BM) oparty jest o coraz szerszą wiedzę dotyczącą immunologii przeszczepu [15]. Analizy EBMT wykazały, że z zastosowaniem PBSC wiąże się większa częstość występowania przewlekłej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (chronic graft versus host disease – cGvHD). Zjawisko to może mieć również pozytywny charakter związany ze wspomnianą wcześniej reakcją GvL. PBSC preferowane są w przypadku ostrych białaczek, szczególnie z wysokim ryzykiem wznowy. W schorzeniach nieonkologicznych – np. anemii aplastycznej preferuje się donacje szpiku. Po potwierdzeniu terminu planowanej donacji ośrodek pobierający ma obowiązek przeprowadzić tzw. klirens dawcy. Obejmuje on ocenę ogólnego stanu zdrowia oraz dokładne badania wirusologiczne przeprowadzone w oparciu o metody molekularne. Dopiero po uzyskaniu i zaakceptowaniu klirensu z potwierdzoną zgodą dawcy na donację, ośrodek przeszczepowy może rozpocząć postępowanie przygotowawcze. W planowanych w naszym ośrodku transplantacjach w jednym przypadku doszło do dyskwalifikacji dawcy z przyczyn medycznych. Wyjątkowo, donacja staje się przyczyną zdiagnozowania schorzenia u dawcy [4].

Postępowanie przygotowawcze

Procedura przeszczepienia szpiku lub PBSC od dawcy niespokrewninowego nie różni się w ogólnym zarysie od przedstawionej w publikacji z roku 1999 procedury przeszczepienia rodzinnego,

z dwoma wyjątkami. Różnicę stanowi postępowanie przygotowawcze, które zwykle opiera się o napromieniowanie całego ciała (total body irradiation – TBI). Ponieważ przeprowadzenie TBI jest niemożliwe w Gdańsku, chorzy kierowani są do współpracującego z nami ośrodka radioterapii w Katowicach (Szpital im. Leszczyńskiego). Utrudnia to zasadniczo logistykę procedury i powoduje konieczność kosztownego transportu lotniczego chorych, jednak dyspozycyjność i warunki stwarzane chorym przez ośrodek katowicki są jego ogromnym atutem. Drugą różnicę stanowi intensywność profilaktyki GvHD. Chorzy, poza TBI, cyklofosfamidem, cyklosporyną i metotreksatem, które stosowane są także w przeszczepieniach rodzinnych, otrzymują globulinę antylimfocytarną, powodującą głębsze i dłuższe upośledzenie odporności. W wyznaczonym dniu transplantacji, określanym dniem 0, do ośrodka pobierającego udaje się kurier (zwykle członek zespołu przeszczepowego) i odbiera materiał przeszczepowy. Przewóz materiału, szczególnie z zagranicy, w celu maksymalnego skrócenia czasu od pobrania do przetoczenia choremu, odbywa się zazwyczaj transportem lotniczym. Fakt ten stanowi o ewidentnej przewadze donacji dokonywanych w Polsce. Ponadto, poza kosztami i czasem transportu, cena materiału przeszczepowego pobranego zagranicą jest 2, a nawet 3-krotnie wyższa niż w Polsce.

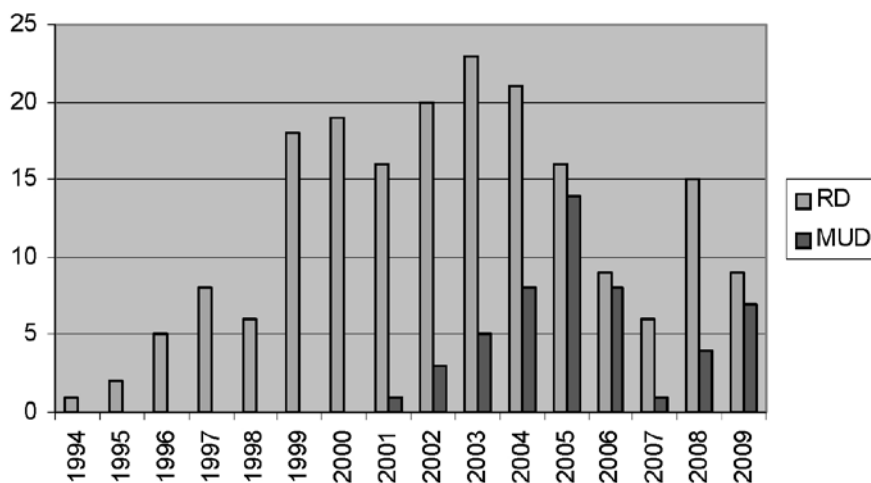
Przetoczenie materiału przeszczepowego odbywa się na oddziale przeszczepowym pod kontrolą lekarską. Na oddziale o podwyższonej aseptryce chorzy pozostają średnio do doby +30 po transplantacji, a ich monitorowanie, profilaktyka infekcji i GvHD nie różni się od przebiegu procedury przeszczepienia od dawców rodzinnych. Po wypisie ze szpitala chorzy pozostają pod opieką Poradni Transplantacyjnej, w której poza oceną ogólnego stanu zdrowia, kontroluje się funkcję przeszczepu, prowadzi profilaktykę i zwalcza powikłania, w szczególności cGvHD, a także monitoruje się obecność choroby resztkowej oraz szeroko pojęty chimeryzm hematopoetyczny.

WYNIKI

Od początku działalności gdańskiego ośrodka transplantacyjnego szpiku do połowy 2009 roku wykonano ogółem 270 przeszczepień allogenicznych w tym 51 od dawców niespokrewnionych. W gdańskim ośrodku od 1996 roku wykonywane są również transplantacje autologicznych komórek progenitorowych, których liczba osiągnęła w roku 2009 - 384. Wyniki tej procedury będą przedmiotem odrębnego opracowania. Dane dotyczące liczby wykonanych w kolejnych latach zabiegów allogenicznych przedstawiono na rycinie 3.

Po okresie praktycznego zawieszenia działalności przeszczepowej w roku 2007 odzyskujemy pozycję czwartego co do aktywności ośrodka w Polsce, nadal jedyne w północnej części kraju.

W transplantacjach od dawców niespokrewnionych przeprowadzonych w naszym ośrodku w 10 przypadkach na 51, materiałem przeszczepowym był szpik, w 40 PBSC, w jednym przypadku jednostka krwi pępowinowej. Skład komórkowy przeszczepu nie różnił się istotnie od opisanego w 1999 r. [7]. Zauważono jednak, że do pozyskania pożądanej ilości materiału przeszczepowego z krwi obwodowej wystarczył w kilku przypadkach tylko 1 zabieg cytaferazy. Było to powodem analizy procedury donacji w naszym ośrodku, która prowadziła do wniosku o konieczności modernizacji sprzętowej pracowni cytaferazy. W roku 2009 Klinika wzbogaciła się o nowej generacji separator komórkowy, stwarzający możliwość znacznie efektywniejszego kolekcjonowania komórek macierzystych. Aparat zakupiono z funduszy



Ryc. 3. Liczba allotransplantacji wykonanych w ośrodku gdańskim w latach 1994 – 2009 (RD – transplantacje od dawców rodzinnych, MUD – transplantacje od dawców niespokrewnionych)

Fig. 3. Number of allotransplantation performed in Gdańsk centre in 1994–2009 years (RD – related donor, MUD – match unrelated donor transplantations)

centralnych przeznaczonych na realizację programu doskonalenia diagnostyki ostrych białaczek u dorosłych w Polsce, z dostosowaniem do zaleceń Unii Europejskiej i współpracy z European Leukemia Net.

Od 2001 roku dokonaliśmy również 21 poborów komórek macierzystych dla innych ośrodków, w tym 2-krotnie zagranicznych. W 9 przypadkach materiałem pobieranym był szpik. Warty podkreślenia jest fakt, że czworo dawców – dwoje studentów i dwie absolwentki – wywodziło się z naszej uczelni.

Podobnie jak w transplantacjach rodzinnych, w okresie po przetoczeniu komórek macierzystych dochodzi do głębokiej pancytopenii, który w zależności od schorzenia trwa krócej lub dłużej i kończy się wraz z okresem regeneracji szpiku. Za wskaźnik wszczepienia uznaje się osiągnięcie liczby neutrocytów powyżej 0,5 G/l w dwóch kolejnych dniach. U dwóch naszych chorych, mimo przetoczenia ilości komórek CD 34+ (wczesne progenitory hemopoety) przekraczającej uznaną za minimalną ($2 \times 10^6/\text{kg}$ wagi ciała biorcy) nie doszło do wszczepienia, co było powodem doszczepu. Mediana czasu do osiągnięcia wszczepienia była nieco wyższa niż w przypadku przeszczepień rodzinnych i wynosiła 17 dni (zakres 14 – 24 dni) w porównaniu do 15 dni w przeszczepach rodzinnych. W tej grupie nie uwzględniono danych z przeszczepienia krwi pępowinowej, gdzie okres regeneracji hematopoety jest zawsze dłuższy. W przypadku przeszczepionej przez nas krwi pępowinowej wszczepienie uzyskano w dobie +21. Regeneracja układu czerwonokrwinkowego i megakariocytarnego następuje zwykle w późniejszych dniach.

Niezgodność między biorcą a dawcą w zakresie grup głównych krwi ABO nie jest przeciwwskazaniem do transplantacji. Wiąże się z nią jednak kilka problemów przeszczepowych. W

przypadku niezgodności większej (we krwi biorcy obecne przeciwciała naturalne skierowane przeciwko antygenom na krwinkach dawcy) i wysokim mianie izoaglutynin (miano większe lub równe 1:64), konieczne jest przeprowadzenie u biorcy plazmaferezy poprzedzającej przeszczep. W omawianej grupie chorych problem ten wystąpił u 5 pacjentów. W przypadku niezgodności mniejszej (we krwi dawcy obecne przeciwciała skierowane przeciwko antygenom na krwinkach biorcy) możliwe jest wystąpienie odczynu hemolitycznego – obserwowanego w naszym ośrodku 2-krotnie. Kolejnym problemem jest dobór właściwianie preparatów krwi, co zawsze ustala się we współpracy z Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa. Czas do osiągnięcia niezależności od transfuzji masy czerwonych krwinek nie różnił się istotnie w grupach z poszczególnymi rodzajami niezgodności ABO, jednak mediana stężenia hemoglobiny w dobie +30 po przeszczepieniu była niższa u biorców przeszczepów niezgodnych w układzie ABO i wynosiła 10,1 g/dl w porównaniu do 11,4 g/dl w przypadku przeszczepień zgodnych w ABO [3]. Trzecim problemem jest występowanie czystej aplazji czerwonych krwinek u chorych z niezgodnością większą. W badanej grupie powikłanie to wystąpiło u 4 chorych po przeszczepieniu rodzinnym i 1 biorcy przeszczepu od dawcy niespokrewnionego [10]. Małopłytkowość występująca w okresie aplazji szpiku u wszystkich chorych wymagała leczenia substytucyjnego. W grupie chorych po przeszczepieniu od dawcy niespokrewnionego zanotowano 1 zgon z powodu masowego krwawienia z przewodu pokarmowego, spowodowanego zajęciem jelita w przebiegu ostrej postaci choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (acute graft versus host disease aGvHD). Agranulocytoza towarzysząca anemii i skazie krwotocznej stwarza zagrożenie ciężkimi powikłaniami infekcyjnymi. Stany gorączkowe występują praktycznie u wszystkich chorych. Obecnie, dzięki współpracy z Laboratorium Mikrobiologii Klinicznej UCK, u większości chorych udaje się ustalić ich etiologię - punkt wyjścia infekcji lub rodzaj patogenu, co pozwala na zastosowanie celowanej antybiotykoterapii. Nadal najczęściej wykrywanym patogenem jest *Staphylococcus epidermidis*, co wynika z zastosowania u wszystkich chorych kateterów zakładanych do żył centralnych.

Okres regeneracji wiąże się z zagrożeniem wystąpienia objawów ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. Proces ten, wynikający z rekonstrukcji układu immunologicznego dawcy, może prowadzić do ciężkich zmian narządowych, dotyczących głównie skóry, nabłonka jelitowego i wątroby, i zależnie od stopnia nasilenia stanowi jedną z głównych przyczyn wczesnej śmiertelności poprzyszczepowej. Stopień zaawansowania ustala się o ogólnie przyjętą skalę zaproponowaną przez ośrodek w Seattle [12, 13]. Począwszy od stopnia II chorzy wymagają intensyfikacji leczenia immunosupresyjnego, poprzez podawanie wysokich dawek sterydów kory nadnerczy. Wystąpienie zmian charakterystycznych dla IV stopnia zaawansowania wiąże się z niemal 100% śmiertelnością. Mimo stosowania intensywnej profilaktyki, u 57% chorych po przeszczepach od dawców niespokrewnionych i 46% chorych po transplantacjach rodzinnych dochodzi do rozwoju aGvHD w stopniu II i wyższych. W analizie danych zwraca uwagę wyższy odsetek aGvHD I stopnia w przeszczepach od MUD, ale także wyższy odsetek aGvHD IV stopnia w przeszczepieniach rodzinnych. We wszystkich przypadkach IV stopnia zaawansowania była to choroba oporna na stosowanie sterydów kory nadnerczy, co zawsze pogarsza rokowanie. Występowanie aGvHD w obu rodzajach przeszczepień dokonanych u chorych w naszym ośrodku przedstawiono na rycinie 4.

Wysoka śmiertelność w opornej na terapię aGvHD jest powodem poszukiwania nowych metod terapeutycznych. Próby tego typu podejmowane są również w naszym ośrodku. We współpracy z Zakładem Immunologii Klinicznej i Transplantologii, dzięki opracowanej tam



Ryc. 4. Występowanie ostrej postaci choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD) w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego w przeszczepieniach od dawców rodzinnych (RD) i niespokrewnionych (MUD)

Fig. 4. Distribution of clinical grades (0,I,II,III,IV) of acute graft versus host disease in related (RD) and unrelated (MUD) donor transplantation

innowacyjnej metodzie uzyskiwania i hodowli limfocytów T regulatorowych (Treg), odgrywających kluczową rolę w zjawiskach tolerancji immunologicznej, podjęliśmy badania nad możliwością podawania komórek Treg chorym z GvHD. Pierwsze, formalnie zaakceptowane, próby kliniczne, przeprowadziliśmy u 2 chorych z zaawansowaną postacią przewlekłej GvHD oraz 1 chorego z oporną na terapię ostrą postacią GvHD IV stopnia. Badania dały zachęcające rezultaty, które zostały opublikowane w 2009 roku, jako pierwsze w piśmiennictwie światowym doniesienie o klinicznym zastosowaniu Treg u chorych z GvHD [14].

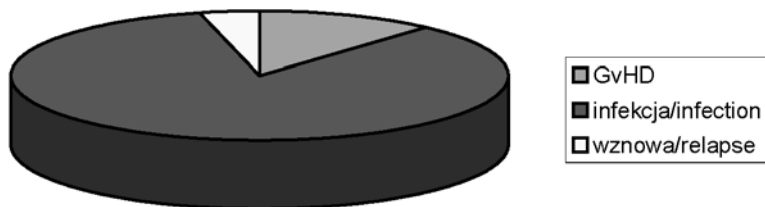
Na odległe wyniki transplantacji allogenicznych mają istotny wpływ późne powikłania przeszczepowe, a wśród nich przede wszystkim występowanie przewlekłej GvHD i wznowy choroby. Przewlekła GvHD mogąca znacznie pogarszać jakość życia pacjentów po transplantacji, stała się przedmiotem nowych, międzynarodowych opracowań zarówno kryteriów rozpoznawczych, jak i podejścia terapeutycznego. Zaproponowane skale oceny klinicznej opierają się na stopniu uszkodzenia narządów zajętych chorobą. W przedstawionej grupie chorych po transplantacjach od dawców niespokrewnionych częstość występowania przewlekłej GvHD w stopniu wymagającym przewlekłej immunosupresji wynosiła 20,4% u chorych ponad rok od transplantacji, co jest odsetkiem niskim.

Mając na uwadze, że wznowy choroby zasadniczej są jedną z głównych przyczyn późnej śmiertelności potransplantacyjnej, pacjenci są systematycznie oceniani pod względem obecności choroby resztkowej oraz chimeryzmu hemopoetycznego [9]. Systematyczne badania nad tym ostatnim, które prowadzimy we współpracy z Katedrą i Zakładem Medycyny Sądowej, dzięki środkom przyznawanym na realizację wspomnianego wyżej programu doskonalenia leczenia ostrych białaczek w Polsce, pozwoliły na określenie użyteczności tej metody jako wskaźnika

prognostycznego [2]. Szybkie (przed dołą +100) uzyskiwanie całkowitego chimeryzmu wiązało się w badanej przez nas grupie z większą częstością występowania przewlekłej GvHD [1].

Nieodłącznym czynnikiem oceny transplantacji jest analiza przyczyn zgonów. Jest ona podstawą do wyciągania wniosków zarówno diagnostycznych, jak i terapeutycznych. W przedstawionej przez nas grupie chorych po przeszczepieniach od dawców niespokrewnionych śmiertelność wczesna (do doby +100) wynosiła 32,1%, co stało się przedmiotem szczegółowej analizy przyczyn zgonów wczesnych. Odsetek zgonów oraz przyczyny śmiertelności wczesnej przedstawiono na ryc.5.

Przyczyny śmiertelności wczesnej Causes of early mortality



Ryc. 5. Analiza przyczyn wczesnych zgonów chorych poddanych transplantacji od dawców niespokrewnionych (GvHD – choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi)

Fig. 5. Causes of early MUD transplantation mortality (GvHD – Graft versus Host Disease, infection, relapse)

Wyniki analizy, a w szczególności fakt, że w kilku przypadkach czynnikiem prawdopodobnym lub potwierdzonym była infekcja grzybicza (*aspergillus* sp.) nasuwał wniosek o możliwych przyczynach. Szczegółowa kontrola działających na oddziale od ponad 10 lat urządzeń klimatyzujących wykazała ich niewystarczającą wydajność. Jak wspomniano wyżej, w roku 2007 przerwano działalność oddziału na czas prowadzonego remontu urządzeń. Choć sytuacja uległa znaczącej poprawie, to nadal borykamy się z problemami infekcyjnymi związanymi najpewniej ze strukturą lokalową oddziału (kilka sal ma wspólny węzeł sanitarny), które rozwiąże zapewne dopiero przeniesienie oddziału do powstającego Centrum Medycyny Inwazyjnej.

DYSKUSJA

Dyskutując w roku 1999 o przeszczepieniach allogenicznych komórek progenitorowych od dawców rodzinnych, podkreślaliśmy szczególną rolę, jaka odgrywają reakcje emocjonalne

między chorym, a wspomagającym proces leczenia rodzeństwem. Nie byliśmy wtedy w stanie ocenić, jakie emocje wiążą się z procesem donacji zarówno u dawców niespokrewnionych, jak i u biorców tych przeszczepów. W ciągu 8 lat byliśmy kilkakrotnie świadkami wzruszających scen przekazywania wraz z przeszczepem, w różnej, nie naruszającej anonimowości postaci – pozdrowień, życzeń siły i wytrwałości. Byliśmy również świadkami nawiązywania kontaktów między dawcą a biorcą po upływie wymaganego okresu anonimowości. Kilku pacjentów prowadzi systematyczną korespondencję ze swoimi zagranicznymi dawcami, w 1 przypadku doszło do spotkania. Pobierając materiał przeszczepowy dla innych ośrodków, mamy też kontakt z dawcami, którzy dobrowolnie zgłosili się do rejestrów. Możemy więc ocenić, ile ten proces wywołuje pozytywnych emocji, jak nieistotne stają się krótkotrwałe dolegliwości związane z donacją, a przede wszystkim, że dawcy cieszą się nadal pełnią zdrowia. Propagacja idei donacji szpiku jest ze wszech miar uzasadniona, szczególnie wobec faktu, że będąc dużym, europejskim krajem, mamy jedno z najuboższych zasobów rejestrowych.

Dla wielu chorych przeszczepienie szpiku staje się jedyną szansą na pełne wyleczenie. Należą do nich chorzy z ostrymi białaczkami z obecnością czynników wysokiego ryzyka wznowy, chorzy z PBSz, którzy nie osiągają korzyści z terapii celowanej oraz ze schorzeniami, w których nie ma skutecznego leczenia, poza zwalczaniem objawów choroby, jak chorzy z zespołami mielodysplastycznymi. Takie właśnie rozpoznania, uznane przez EBMT za rutynowe wskazania do przeszczepienia stanowiły dominującą grupę wśród chorych poddanych transplantacji od dawców niespokrewnionych. Restrykcyjna ocena ryzyka transplantacyjnego może nakazywać niekiedy odstępianie od tej radykalnej metody terapii, co stawia zespół transplantacyjny przed trudną sytuacją odebrania choremu ostatniej, choćby niewielkiej szansy. Na przedstawione powyżej wyniki mogło mieć również wpływ przeprowadzenie transplantacji w warunkach wysokiego ryzyka transplantacyjnego, co zawsze było skutkiem zdecydowanej woli chorego.

Należy również podkreślić, że wyraźnemu wzrostowi uległ wiek chorych poddawanych transplantacji. Najstarszy poddany transplantacji od dawcy niespokrewnionego miał lat 55. Obecnie, rok od przeszczepienia przeprowadzonego bez powikłań powrócił do pracy zawodowej. Najstarszy pośród grupy biorców przeszczepów rodzinnych miał lat 60. Procedurę przeprowadzono bez powikłań. Niestety, chory zmarł w pierwszym roku po przeszczepieniu z powodu wznowy choroby i niepowodzenia powtórnego przeszczepienia. W obu przypadkach zastosowano procedurę przygotowawczą o zredukowanej intensywności. Wiek nie stanowi obecnie tak silnego ograniczenia kwalifikacyjnego, co potwierdzają nasze doświadczenia.

Mimo częstszego stosowania materiału przeszczepowego pobranego z krwi obwodowej, w przedstawionej grupie chorych nie zanotowaliśmy wysokiego odsetka występowania ciężkich postaci ostrej i przewlekłej GvHD. Może to wynikać z coraz lepszego doboru dawców w oparciu o coraz doskonalsze metody molekularnego badania antygenów HLA. Nadzieje na skuteczne, a przede wszystkim pozbawione objawów ubocznych leczenie GvHD stwarza możliwość zastosowania komórek Treg, które w naturalny sposób mogą wygaszać procesy immunologiczne. Metoda ta wymaga jednak dalszych badań.

Jak wykazano powyżej, nie można przecenić prowadzonej systematycznie analizy przebiegu transplantacji, powikłań i przyczyn zgonów. Jedyne tą metodą można eliminować zależne od naszych działań problemy.

Jak podkreślaliśmy 10 lat temu, przeszczepienie szpiku jest wynikiem pracy wielu zespołów, które muszą działać w sposób ściśle skoordynowany, aby to trudne przedsięwzięcie

zakończyło się sukcesem. Sprawdzenie skuteczności nowych leków lub procedur wymaga zwykle działań wiekoośrodkowych.[11] Postęp zaś jest możliwy, gdy do tych działań mogą włączyć się także naukowcy nie zaangażowani bezpośrednio w pracę kliniczną. Wydaje się, że w naszym ośrodku udaje się realizować taki właśnie model działania.

PIŚMIENNICTWO

1. Balon J., Hałaburda K., Bieniaszewska M., Reichert M., Bieniaszewski L., Piekarska A., Pawłowski R., Hellmann A.: Early complete donor hematopoietic chimerism in peripheral blood indicates the risk of extensive graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* 2005,35,11,1083. – 2. Bieniaszewska M., Balon J., Hałaburda K., Reichert M., Piekarska A., Pawłowski R., Hellmann A.: Kliniczne znaczenie wczesnego, całkowitego chimeryzmu po allogeniczej transplantacji komórek macierzystych hemopoety. *Acta Haematol. Pol.* 2004,35,2,217. – 3. Bieniaszewska M., Balon J., Hałaburda K., Malinowska M., Nowakowska E., Hellmann A. Analiza przebiegu odnowy erytropoezy po przeszczepie komórek progenitorowych od dawców zgodnych i niezgodnych w zakresie grup głównych krwi. *Acta Haematol. Pol.* 1999,30,289. – 4. Hałaburda K., Bieniaszewska M., Brożek I., Limon J., Hellmann A. Diagnosis of Klinefelter syndrome in the donor after peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2000,25,4,461. – 5. Hałaburda K., Prejzner W., Szatkowski D., Limon J., Hellmann A.: Allogeneic bone marrow transplantation for hypereosinophilic syndrome: long-term follow-up with eradication of FIP1L1-PDGFR fusion transcript. *Bone Marrow Transplant.* 2006,38,4,319. – 6. Hałaburda K., Zaucha J.M., Bieniaszewska M., Knopińska-Postuszny W., Hellmann A.: Pierwsza allogeniczna transplantacja szpiku kostnego od dawcy niespokrewnionego w Akademii Medycznej w Gdańsku. *Ann. Acad. Med. Gedan.* 2002,32,13. – 7. Hellmann A., Bieniaszewska M., Hałaburda K., Lewandowski K., Knopińska-Postuszny W., Balon J.: Allogeniczne transplantacje komórek progenitorowych hemopoety w gdańskim ośrodku transplantacyjnym w latach 1994-1999. *Ann. Acad. Med. Gedan.* 2000, 30, 15. – 8. Hellmann A., Bieniaszewska M., Zaucha J.M., Hałaburda K., Balon J.: Allogeniczne transplantacje komórek progenitorowych hemopoety w przewlekłej białaczce szpikowej – doświadczenia ośrodka gdańskiego. *Współ. Onkol.* 2002,6,10,670. – 9. Hellmann A., Zaucha J.M., Pawłowski R., Welz A., Hałaburda K.: Amplification of the VNTR systems HUMACTBP2 and HUMTHO1 by the polymerase chain reaction for documentation of residual recipient cells after allogeneic bone marrow transplantation. *Appl. Biol. Commun.* 1996,6,suppl.1,127. – 10. Mikołajczuk J., Piekarska A., Balon J., Bieniaszewska M.: Wybiórcza aplazja czerwonych krwinek po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych – opis przypadku. *Acta Haematol. Pol.* 2001,32,2,235
11. Nasilowska-Adamska B., Rzepecki P., Mańko J., Czyż A., Markiewicz M., Federowicz I., Tomaszewska A., Piątkowska-Jakubas B., Wrzesień-Kuś A., Bieniaszewska M., Duda D., Szydło R., Hałaburda K., Szczepiński A., Lange A., Hellmann A., Robak T., Skotnicki A., Mariańska B.: The influence of palifermin (Kepivance) on oral mucositis and acute graft versus host disease in patients with hematological diseases undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007,40,10,983. – 12. Przepiórka D., Smith T., Folloder J., Khouri I., Ueno T.N., Mehra R., Korbli M., i in.: Risk factors for acute graft-versus-host disease after allogeneic blood stem cell transplantation. *Blood* 1999,94,4,1465. – 13. Przepiórka D., Weisdorf D., Martin P., Klingemann H.G., Beatty P., Hows J., Thomas E.D.: Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant.* 1995,15,6, 825. – 14. Trzonkowski P., Bieniaszewska M., Juścińska J., Dobyszuk A., Krzystyniak A., Marek N., Myśliwska J., Hellmann A.: First-in-man clinical results of the treatment of patients with graft versus host disease with human ex vivo expanded CD4+ CD25+ CD127- T regulatory cells. *Clin. Immunol.* 2009,133,1,22. – 15. Trzonkowski P., Zaucha J.M., Myśliwska J., Balon J., Szmit E., Hałaburda K., Bieniaszewska M., Młotkowska M., Hellmann A., Myśliwski A.: Differences in kinetics of donor lymphoid cells in response to G-CSF administration may affect the incidence and severity of acute GvHD in respective HLA-identical sibling recipients. *Med. Oncol.* 2004, 21,1,81. – 16. Zaucha J.M., Piekarska A., Szatkowski D., Hellmann A.:

Skuteczne przeszczepienie krwi pepowinowej po zredukowanym postępowaniu przygotowawczym u dorosłej chorej z nawrotem ostrej białaczki szpikowej po autologicznej transplantacji komórek krwiotwórczych – opis przypadku. *Acta Haematol. Pol.* 2007,38,3,339. – 17. Zaucha J.M., Dytfeld D., Rokicka M., Hołowiecka-Goral A., Hawrylecka D., Torosian T., Markiewicz M., Wachowiak J., Kowalczyk J., Hołowiecki J.: Nowe kryteria rozpoznania i klasyfikacji przewlekłej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi – Raport z Warsztatów Transplantologicznych Warszawa 2006. *Acta Haematol Pol* 2007, 38(1),91. – 18. Zaucha J.M., Prejzner W., Giebel S., Gooley T.A., Szatkowski D., Kałwak K., Wojnar J., Krużel T., Balon J., Hołowiecki J., Hellmann A.: Imatinib therapy prior to myeloablative stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2005,36,417

M. Bieniaszewska, W. Prejzner, W. Knopińska-Posłuszny, A. Piekarska, G. Moszkowska, M. Taszner, A. Hellmann

ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN GDAŃSK TRANSPLANTATION CENTER, YEARS 1994 – 2009

Summary

In the paper we presented our allogeneic hematopoietic stem cell transplantation experience in the 15 years period. We presented a new type of transplantation - from match unrelated donors, started in Gdańsk in 2001 year. The indications for the procedure and their changes in the last few years were analysed. In the imatinib era, transplantation is no more the front line therapy in chronic myelogenous leukaemia. The most frequent group of patients had acute leukaemias. We presented different methods of transplantation: the actual bone marrow transplantation, grafting of peripheral blood stem cells and cord blood cells. The second method is the preferred one in our center. We analysed the course of transplantations with particular interest in complications of the procedure. Acute graft versus host disease (aGvHD), a unique complication of hematopoietic stem cell transplantation, was observed in 88% of patients. In 56% of them the clinical course of aGvHD demanded treatment. We also analysed transplant related mortality. The main reason of early mortality was infections - probably due to the dysfunction of pressure of air laminar flow system and transplantation in patient with high transplant risk. In spite of life threatening complications allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is the only method that provides cure in over 60% of malignant hematologic diseases.

Adres: Maria Bieniaszewska

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii GUMed

ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk

e-mail: klhem@gumed.edu.pl