



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Lek. Izabella Miśkiewicz-Migoń

**ST 2 i REG3alfa jako markery ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi u
dzieci poddanych procedurze allogenicznego przeszczepienia komórek
hematopoetycznych**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: prof. dr hab. n. med. Krzysztof Kalwak

Wrocław 2023

Niniejsze badanie zostało przeprowadzone w ramach projektu naukowego pn. „ST2 i REG3alfa jako markery ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi u dzieci poddanych procedurze allogenicznego przeszczepienia komórek hematopoetycznych” realizowanego w ramach środków finansowych Fundacji „Na Ratunek Dzieciom z Chorobą Nowotworową” na podstawie Umowy z Uniwersytetem Medycznym we Wrocławiu nr B/03/05/2020 z dnia 12.05.2020 roku.

miskiewicz.izabella@gmail.com

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

wyb. Ludwika Pasteura 1

50-367 Wrocław

Recenzenci:

1. prof. dr hab. n. med. Iwona Malinowska
2. dr hab. n. med. Joanna Trelńska
3. prof. dr hab. n. med. Mirosław Markiewicz

Składam serdeczne podziękowania

Promotorowi, Panu prof. dr hab. n. med. Krzysztofowi Kałwakowi, za nieocenioną pomoc merytoryczną oraz poświęcony czas w trakcie realizacji niniejszej pracy naukowej

Siostrze Justynie Miśkiewicz-Bujnej oraz bratu za motywację i ogromne wsparcie podczas pisania

Mężowi, Rodzicom, Annie i Jadwidze Miśkiewicz za motywację oraz pomoc w opiece nad synkiem podczas pisania pracy naukowej

Spis treści

Wykaz stosowanych skrótów	7
Wykaz rycin	10
Wykaz tabel.....	11
1. Streszczenie w języku polskim	13
2. Streszczenie w języku angielskim.....	16
3. Część teoretyczna.....	19
3.1. Wstęp.....	19
3.2. Allogeniczna transplantacja komórek hematopoetycznych	20
3.3. Rys Historyczny	20
3.4. Źródła komórek hematopoetycznych	22
3.5. Dawcy komórek hematopoetycznych.....	22
3.6. Kondycjonowanie przed transplantacją komórek hematopoetycznych.....	24
3.7. Transplantacja komórek hematopoetycznych u dzieci	25
3.8. Powikłania po transplantacji komórek hematopoetycznych.....	25
3.8.1. Choroba wenookluzyjna wątroby.....	26
3.8.2. Infekcje.....	27
3.8.3. Choroba przeszczep przeciw gospodarzowi.....	28
3.9. Biomarkery	35
3.9.1. Białko ST2.....	36
3.9.2. Białko REG3 α	36
3.9.3. Białko CD163.....	37
4. Część doświadczalna.....	38
4.1. Cel pracy.....	38
4.2. Materiały i metody.....	39
4.3. Wyniki	42
4.3.1. Charakterystyka chorych.....	42

4.3.2.	OS, NRM, wznowa	44
4.3.3.	Ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi.....	46
4.3.4.	Status CMV	62
4.3.5.	Inne powikłania przeszczepowe	63
4.3.6.	Korelacja stężeń ST2, REG3 α i sCD163 ze zmiennymi jakościowymi	64
4.3.7.	Związek między stężeniem ST2, REG3 α i sCD163 a zmiennymi ilościowymi	65
5.	Dyskusja	67
6.	Wnioski	74
7.	Piśmiennictwo	75
8.	Dorobek Naukowy Doktoranta	84
9.	Zgoda Komisji Bioetycznej.....	87

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

aGVHD	Ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (ang. <i>acute graft-vs.-host disease</i>)
allo-HSCT	Transplantacja allogenicznych komórek hematopoetycznych (ang. <i>allogeneic hematopoietic stem cell transplantation</i>)
APC	Komórka prezentująca antygen (ang. <i>antigen presenting cell</i>)
ATG	Globulina antytymocytowa (ang. <i>antithymocyte globulin</i>)
auto-HSCT	Transplantacja autologicznych komórek hematopoetycznych (ang. <i>autologous hematopoietic stem cell transplantation</i>)
CD163	Białko CD163 (ang. <i>Cluster of Differentiation 163</i>)
cGVHD	Przewlekła choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (ang. <i>chronic graft-vs.-host disease</i>)
CLS	Zespół przesiąkania włosniczek (ang. <i>Capillary Leak Syndrome</i>)
CTL	Limfocyty T cytotoksyczne (ang. <i>cytotoxic lymphocytes</i>)
EBMT	Europejska Grupa ds. Przeszczepiania Krwi i Szpiku (ang. <i>European Group for Blood and Marrow Transplantation</i>)
ELISA	Immunoenzymatyczny test fazy stałej (ang. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
G-CSF	Czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (ang. <i>granulocyte colony stimulating factor</i>)
GVHD	Choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (ang. <i>graft-vs.-host disease</i>)
GvL	Reakcja przeszczep przeciw białaczce (ang. <i>graft versus leukemia</i>)
GvT	Reakcja przeszczep przeciwko guzowi (ang. <i>graft versus tumor</i>)
HSCT	Transplantacja komórek krwiotwórczych (ang. <i>hematopoietic stem cell transplantation</i>)

IBMFS	Zespoły wrodzonej niewydolności szpiku kostnego (ang. <i>inherited bone marrow failure syndromes</i>)
IBMRT	Międzynarodowy Rejestr Transplantacji Szpiku Kostnego (ang. <i>International Bone Marrow Transplantation Registry</i>)
Komórki NK	Komórki naturalnej odporności (ang. <i>natural killer T</i>)
LPS	Lipopolisacharyd (ang. <i>Lipopolysaccharide</i>);
MAC	Mieloablacyjne kondycjonowanie (ang. <i>myeloablative conditioning</i>)
MFD	Zgodny dawca rodzinny (ang. <i>matched family donor</i>)
MHC	Kompleks główny zgodności tkankowej (ang. <i>major histocompatibility complex</i>)
MD	Zgodny dawca rodzinny lub dawca niespokrewniony zgodny w 10/10 lub 9/10 alleli HLA (ang. <i>matched donor</i>)
MMD	Częściowo zgodny w HLA dawca rodzinny lub niespokrewniony (ang. <i>mismatched donor</i>)
MMF	Mykofenolan mofetilu (ang. <i>mycophenolate mofetil</i>)
MMUD	Częściowo zgodny dawca niespokrewniony (ang. <i>mismatched unrelated donor</i>)
MSD	Rodzeństwo zgodne w zakresie antygenów układu HLA (ang. <i>matched sibling donor</i>)
MTX	Metotreksat (ang. <i>methotrexate</i>)
MUD	Zgodny dawca niespokrewniony (ang. <i>matched unrelated donor</i>)
NIH	Narodowy Instytut Zdrowia (ang. <i>National Institute of Health</i>)
NRM	Śmiertelność niezwiązana z nawrotem (ang. <i>non-relapse mortality</i>)
OS	Czas całkowitego przeżycia (ang. <i>overall survival</i>)
PBSC	Komórki macierzyste krwi obwodowej (ang. <i>peripheral blood stem cells</i>)
REG3 α	Białko Reg3 α (ang. <i>regenerating islet-derived protein 3 alpha</i>)

RIC	Kondycjonowanie o zredukowanej intensywności (ang. <i>reduced-intensity conditioning</i>)
sCD163	Rozpuszczalna forma białka CD163 (ang. <i>soluble CD163</i>)
SOS	Zespół niedrożności zatokowej (ang. <i>sinusoidal obstruction syndrome</i>)
ST2	Białko ST2 (and. <i>The Suppression of Tumorigenicity 2 protein</i>)
SR-aGVHD	Postać sterydooporna aGVHD (ang. <i>steroid resistant aGVHD /steroid-refractory aGVHD</i>)
TAM	Mikroangiopatia zakrzepowa (ang. <i>transplant-associated microangiopathy</i>)
TBI	Napromieniowanie całego ciała (ang. <i>Total Body Irradiation</i>)
VOD	Choroba wenookluzyjna wątroby (ang. <i>veno-occlusive disease</i>)

WYKAZ RYCIN

Rycina 1. Stężenia ST2 w dobie +28 po allo-HSCT u pacjentów chorujących na aGVHD oraz pacjentów nie chorujących na aGVHD (pg/mL).....	48
Rycina 2. Stężenie sCD163 w populacji aGVHD z podziałem na aGVHD postać sterydooporną (1) i sterydowrażliwą (0).....	54
Rycina 3. Stężenie REG3 α w populacji aGVHD z podziałem na aGVHD postać sterydooporną(1) i sterydowrażliwą (0)	55
Rycina 4. Stężenie ST2 w populacji aGVHD z podziałem na aGVHD postać sterydooporną(1) i sterydowrażliwą (0).....	56
Rycina 5. Krzywa ROC - próba testowa (AUC 0,438).....	58
Rycina 6. Krzywa ROC - próba ucząca (AUC=0,944).....	59
Rycina 7. Proponowana wartość progowa stężenia sCD163 w dobie +1 aGVHD dzieląca pacjentów na sterydoopornych i sterydowrażliwych.	60

WYKAZ TABEL

Tabela 1. Kryteria diagnostyczne VOD/SOS u dzieci wg EBMT[30].....	27
Tabela 2. Ocena nasilenia aGVHD wg zmodyfikowanej skali Glucksberga oraz skali wg IBMRT uwzględniając kryteria Jacobsohna stosowane u pacjentów pediatrycznych[36], [41], [45]	31
Tabela 3. Ocena nasilenia aGVHD wg kryteriów „MAGIC”[46]	33
Tabela 4. Charakterystyka pacjentów	43
Tabela 5. Istotność statystyczna związku pomiędzy stężeniem ST2, REG3 α i sCD163 a NRM	45
Tabela 6. Istotność statystyczna związku pomiędzy stężeniem ST2, REG3 α i sCD163 ze wznową oraz śmiercią związaną ze wznową	45
Tabela 7. Istotność statystyczna związku pomiędzy stężeniem ST2, REG3 α i sCD163 z wystąpieniem zgonu	46
Tabela 8. Mediana stężeń ST2, REG3 α i sCD163 w całej kohorcie pacjentów	47
Tabela 9. Istotność statystyczna związku między stężeniami ST2, REG3 α , sCD163 z wystąpieniem aGVHD oraz sterydoopornej postaci aGVHD	49
Tabela 10. Mediana stężeń ST2, REG3 α i sCD163 w badanych punktach czasowych.....	50
Tabela 11. Analiza stężeń ST2, REG3 α , sCD163 w odniesieniu do czynników mogących mieć związek z aGVHD u chorych z rozpoznaniem aGVHD w dobach +7 oraz +28 po allo-HSCT	51
Tabela 12. Analiza związku między czynnikami związanymi z aGVHD oraz powikłaniami po allo-HSCT a stężeniami ST2, REG3 α , sCD163 w +1 oraz +7 dobie aGVHD.....	52
Tabela 13. Istotność statystyczna związku między stężeniami ST2, REG3 α , sCD163 z wystąpieniem sterydoopornej postaci aGVHD	53
Tabela 14. Sterydooporna postać aGVHD - ocena parametrów jednoczynnikowego modelu regresji logistycznej.....	57
Tabela 15. Stężenia ST2, REG3 α , sCD163 w trzech kategoriach (low, medium, high)	60
Tabela 16. Różnice stężeń markerów po ich przekodowaniu (low, medium, high) w przypadku sterydowrażliwej oraz sterydoopornej postaci aGVHD.....	62
Tabela 17. Istotność statystyczna związku między stężeniami ST2, REG3 α , sCD163 z wystąpieniem powikłań po allo-HSCT	63
Tabela 18. Istotność statystyczna związku między stężeniem ST2 a zmiennymi jakościowymi	65

Tabela 19. Związek między stężeniem ST2, REG3 α i sCD163 ze zmiennymi ilościowymi . 66

1. STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Wstęp

Allogeniczne przeszczepienie komórek hematopoetycznych (allo-HSCT) jest niejednokrotnie jedyną dostępną metodą ratującą życie pacjentów z chorobami nowotworowymi oraz nienowotworowymi. Niestety, powikłania procedury przeszczepowej wciąż stanowią ograniczenie tej metody leczenia. Jednym z najczęściej występujących powikłań po procedurze allo-HSCT jest ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (ang. *acute graft-vs.-host disease* – *aGVHD*), która występuje u około połowy pacjentów i stanowi jedną z głównych przyczyn śmierci niezwiązaną ze wznową[1]. Ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi dotyczy zwykle skóry, przewodu pokarmowego i wątroby. Poznane są czynniki ryzyka aGVHD, do których należą m.in.: wiek pacjenta, rodzaj kondycjonowania, rodzaj dawcy, zgodność w antygenach HLA między dawcą a biorcą[2]. Niemniej, w praktyce klinicznej nie są dostępne żadne metody, które umożliwiłyby wyodrębnienie grupy pacjentów, u których występuje wysokie ryzyko wystąpienia aGVHD, w tym sterydoopornej postaci aGVHD. Poznanie markerów związanych z tym powikłaniem mogłoby umożliwić wprowadzenie lepszej profilaktyki oraz szybsze i lepiej ukierunkowane leczenie sterydoopornej postaci aGVHD, poprawiając tym samym przeżywalność pacjentów poddanych procedurze allo-HSCT.

Cel pracy

Celem pracy była prospektywna analiza trzech potencjalnych laboratoryjnych markerów oznaczonych z osocza pacjentów poddanych procedurze allo-HSCT: ST2, REG3 α , sCD163, które mogą być związane z wystąpieniem aGVHD oraz sterydooporną postacią aGVHD. Dodatkowym celem pracy była próba oszacowania związku pomiędzy stężeniem badanych białek, a wynikami przeżycia oraz wystąpieniem innych niż aGVHD powikłań po procedurze allo-HSCT.

Materiały i metody

Do badania włączono 70 pacjentów pediatrycznych poddanych procedurze allogenicznego przeszczepienia komórek hematopoetycznych w Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej we Wrocławiu w latach 2020-2022, okres obserwacji pacjentów wynosił minimum 7 miesięcy po transplantacji. Badanie zostało zrealizowane dzięki projektowi

w ramach środków finansowych Fundacji „Na Ratunek Dzieciom z Chorobą Nowotworową” na podstawie Umowy nr B/03/05/2020 z Uniwersytetem Medycznym we Wrocławiu. Oceniano stężenia trzech potencjalnych biomarkerów w osoczu pacjentów: ST2, REG3 α i sCD163. W tym celu zostały pobrane próbki osocza w dobie +7 oraz w dobie +28 po allo-HSCT, dodatkowe próbki w dniu rozpoznania aGVHD oraz w +7 dobie leczenia aGVHD. Materiał poddany był analizie za pomocą testu immunoenzymatycznego (ang. *enzyme-linked immunosorbent assay - ELISA*), który umożliwił oznaczenie stężenia badanych białek. W niniejszej pracy przeprowadzono analizę wpływu stężenia ST2, REG3 α oraz sCD163 na wystąpienie aGVHD, sterydoopornej postaci aGVHD oraz wyniki przeżycia takie jak czas całkowitego przeżycia (ang. *overall survival - OS*) oraz śmiertelność niezwiązana z nawrotem (ang. *non-relapse mortality - NRM*). Dodatkowo, oceniano związek stężeń ST2, REG3 α oraz sCD163 z pojawieniem się innych powikłań przeszczepowych takich jak choroba wenookluzyjna wątroby, powikłania krwotoczne, zespół przesiąkania śródbłonek (ang. *Capillary Leak Syndrome - CLS*), powikłania płucne, powikłania kardiologiczne, a także ze wznową choroby podstawowej.

Wyniki

Niniejsze badanie wykazało, że stężenie ST2 w dobie +28 po allo-HSCT jest istotnie wyższe u chorych z aGVHD, jak również u pacjentów ze sterydooporną postacią aGVHD, niż u osób nie chorujących na te powikłania po transplantacji komórek hematopoetycznych. Nie stwierdzono, aby REG3 α miał związek ani z aGVHD, ani ze sterydooporną postacią aGVHD. W przypadku stężenia sCD163 w całej kohorcie pacjentów również nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic u chorych z aGVHD jak również sterydooporną postacią aGVHD. Wykazano natomiast, że w grupie chorych z rozpoznaniem aGVHD obserwuje się niższe stężenia sCD163 u osób ze sterydooporną postacią aGVHD niż z postacią sterydowrażliwą aGVHD (w dobach +28 po allo-HSCT oraz +1 aGVHD).

Nie stwierdzono, aby stężenia ST2, REG3 α oraz sCD163 wpływały na wskaźniki przeżycia, takie jak OS i NRM, jak również ryzyko wystąpienia wznowy.

Wykazano, że stężenie ST2 w dobie +28 po allo-HSCT jest istotnie wyższe u osób z chorobą wenookluzyjną wątroby. Nie stwierdzono, aby stężenia REG3 α oraz sCD163, jak również ST2 w dobie +7, korelowały z ryzykiem wystąpienia choroby wenookluzyjnej wątroby.

Analiza innych powikłań procedury allo-HSCT wykazała, że u chorych z zespołem przeszczepienia włośniczek obserwuje się wyższe stężenie REG3 α w dobie +28, a u chorych z powikłaniami krwotocznymi ST2 w dobie +28 po allo-HSCT. Nie wykazano, aby stężenia pozostałych badanych białek w analizowanych punktach czasowych korelowały z ryzykiem wystąpienia CLS oraz powikłaniami krwotocznymi. Stężenia ST2, REG3 α oraz sCD163 nie różniły się również w przypadku powikłań pulmonologicznych oraz kardiologicznych.

Wnioski

Ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi jest złożonym procesem, dla wielu klinicystów stanowi wyzwanie pod względem jej rozpoznania oraz leczenia. W badaniu wykazano, że białko ST2 może być markerem służącym do monitorowania aktywności aGVHD lub potwierdzającym aGVHD, jak również może być pomocne w przewidywaniu sterydoopornej postaci aGVHD. Ponadto wykazano wpływ VOD na stężenie ST2, a zespołu przeszczepienia włośniczek na stężenie REG3 α . Niemniej, niezbędne są dalsze badania na większej próbie pacjentów, które pozwoliłyby zweryfikować znaczenie stężenia markera ST2 w dobie +28 po allo-HSCT lub wcześniej oraz markera sCD163 w dobie +28 i +1 aGVHD jako potencjalnych czynników rokowniczych pozwalających na ocenę prawdopodobieństwa wystąpienia aGVHD u pacjentów po allo-HSCT.

2. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM

Introduction

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) is often the only curative option in case of patients suffering from malignant and non-malignant diseases. Unfortunately, allo-HSCT is associated with many complications which are a limitation of this treatment method. One of the most frequent complications is acute graft versus host disease (aGVHD), which occurs in about half of the patients after these procedures and is one of the leading causes of non-relapse mortality (NRM). Acute graft versus host disease targets the skin, gastrointestinal tract and liver. The risk factors for aGVHD include: patient's age, type of conditioning, type of donor, compatibility in HLA antigens between the donor and the recipient. Nevertheless, there are no methods available in clinical practice that would allow the identification of a group of patients at high risk of aGVHD, including steroid-resistant aGVHD. Knowing the markers associated with this complication would enable better prophylaxis and faster and more targeted treatment of steroid-resistant aGVHD, thus improving the survival rate of patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

The aim of this study

The aim of the study was a prospective analysis of three potential laboratory proteins: ST2, Reg3 α , sCD163, which may be associated with the occurrence of aGVHD and steroid-resistant aGVHD. An additional aim of the study was an attempt to estimate the relationship between the concentration of the tested proteins and the results of survival and the occurrence of complications other than aGVHD after the allo-HSCT procedure.

Materials and methods

The study included 70 pediatric patients undergoing allogeneic allo-HSCT at the Department of Bone Marrow Transplantation, Oncology and Pediatric Hematology in Wrocław in 2020-2022, the follow-up was at least 7 months after the allo-HSCT procedure. The objectives of the work were achieved thanks to the project entitled "ST2 and REG3 α as markers of acute graft-versus-host disease in children undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation" granted by the funds of the "Saving Kids with Cancer Foundation" and its cooperation with Wrocław Medical University.

The concentrations of three potential biomarkers: ST2, REG3 α and sCD163 in the plasma of patients were assessed. Plasma samples were collected on day +7 and +28 after allo-HSCT, additional samples on the day of aGVHD diagnosis and on day +7 of aGVHD treatment. The material was analyzed using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In this study, the impact of elevated ST2, Reg3 α , sCD163 on the occurrence of aGVHD, steroid-resistant aGVHD, the survival results such as overall survival (OS) and non-relapse and mortality (NRM) was analyzed. Furthermore, the relationship of ST2, Reg3 α and sCD163 with the occurrence of veno-occlusive disease, bleeding complications, cardiac complications, pulmonary complications, capillary leak syndrome and relapse was assessed.

Results

The study showed that the ST2 level on day +28 after allo-HSCT is significantly higher in patients with aGVHD, as well as in patients with steroid-resistant aGVHD, than in patients without these complications after hematopoietic stem cell transplantation. The REG3 α has not been found to be associated with neither aGVHD, nor steroid-resistant aGVHD. In the entire cohort of patients, there were no statistically significant differences of the concentration of the sCD163 in patients with aGVHD as well as steroid-resistant aGVHD. However, it was shown that in the group of patients diagnosed with aGVHD, lower concentrations of the sCD163 are observed in patients with steroid-resistant aGVHD than in patients with steroid-sensitive aGVHD (on days +28 after allo-HSCT and +1 aGVHD).

It was found that concentrations of ST2, REG3 α and sCD163 did not significantly affect survival factors such as OS and NRM, as well as the risk of relapse.

The study showed that the concentration of the ST2 on day +28 after allo-HSCT is significantly higher in patients with veno-occlusive disease.

The analysis of other complications of the allo-HSCT procedure showed that in patients with capillary leakage syndrome the level of REG3 α is higher on day +28, and in patients with bleeding complications the level of ST2 is higher on day +28 after allo-HSCT. The concentrations of other proteins at the examined time points have not been shown to correlate with the risk of capillary leakage syndrome or bleeding complications. The concentrations of ST2, REG3 α and sCD163 did not differ in the case of pulmonary and cardiological complications.

Conclusions

Acute graft-versus-host disease is a complex process for many clinicians that poses a challenge to its diagnosis and treatment. My study showed that the ST2 protein can be a marker to monitor aGVHD activity or confirm aGVHD, and may be helpful in predicting steroid-resistant aGVHD. Furthermore, the VOD impact on ST2, and capillary leak syndrome on REG3 α was shown. Nevertheless, further studies on a larger sample of patients are necessary to verify the significance of ST2 marker concentration on day +28 after allo-HSCT or earlier, and sCD163 concentration on day +28 and +1 aGVHD, as potential prognostic factors allowing to assess the likelihood of aGVHD in patients after allo-HSCT.

3. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

3.1. WSTĘP

Transplantacja komórek hematopoetycznych jest metodą ratującą życie w wielu chorobach nowotworowych i nienowotworowych. Procedura ta wiąże się z pojawieniem się powikłań, do których należy choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (GVHD), infekcje, powikłania związane z toksycznością stosowanych leków. W skrajnych przypadkach powikłania prowadzą do śmierci pacjenta. Mimo coraz lepszego doboru dawców oraz stosowania udoskonalonych metod leczenia kondycjonującego, powikłania procedury przeszczepowej nadal są istotnym ograniczeniem tej metody leczenia.

Ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (aGVHD) jest częstym powikłaniem występującym po procedurze allogeniczej transplantacji komórek hematopoetycznych (allo-HSCT). W zależności od rodzaju przeszczepu powikłanie to występuje u około 30–80% pacjentów i wiąże się ze zwiększoną śmiertelnością niezwiązaną z nawrotem[1]. Rozpoznanie aGVHD jest często utrudnione w związku z podobieństwem objawów do tych towarzyszących infekcjom oraz związanych z toksycznością leków. U niektórych pacjentów wykonanie biopsji diagnostycznej potwierdzającej diagnozę aGVHD może być przeciwwskazane ze względu na zły stan ogólny chorego. Leczenie pierwszej linii aGVHD polega na ogólnosystemowej podaży kortykosterydów z kliniczną oceną efektywności leczenia po tygodniowej terapii. Niestety, u około 1/3 pacjentów chorujących na GVHD stwierdza się oporność na sterydoterapię, co w konsekwencji wiąże się ze zwiększoną śmiertelnością[3].

W dostępnej literaturze brak jest jednoznacznych danych odnośnie markerów mających związek z aGVHD oraz jej sterydooporną postacią, mimo że od dwóch dekad prowadzone są badania mające na celu ich odkrycie. Obecnie w praktyce klinicznej nie stosuje się testów laboratoryjnych, które ułatwiłyby rozpoznanie aGVHD, pozwoliłyby przewidzieć prawdopodobieństwo pojawienia się tej choroby, przewidzieć jej ciężki przebieg czy oporność na leczenie pierwszej linii – leczenie kortykosterydami. Odkrycie markerów związanych z ryzykiem wystąpienia aGVHD, w połączeniu z łatwością ich oznaczania, mogłyby pomóc klinicystom trafniej stawiać rozpoznanie, oceniać rokowanie, a nawet oceniać odpowiedź na leczenie, a tym samym polepszyć jakość leczenia. W związku z tym w niniejszej pracy podjęto próbę analizy trzech potencjalnych markerów, które według dostępnych publikacji mogą mieć związek z aGVHD. W pracy przeprowadzono analizę opartą na prospektywnym badaniu, do

którego włączono pacjentów pediatrycznych hospitalizowanych w Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej we Wrocławiu, których poddano allogeniczej transplantacji komórek hematopoetycznych. W badaniu analizowano stężenia trzech potencjalnych markerów mogących mieć związek z aGVHD tj. ST2, REG3α, sCD163 w dobach +7, +28 po allo-HSCT, a w przypadku wystąpienia aGVHD również w dniu jej rozpoznania (+1 aGVHD) oraz w +7 dobie leczenia tego powikłania.

3.2. ALLOGENICZNA TRANSPLANTACJA KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH

Transplantacja allogenicznych komórek hematopoetycznych jest metodą leczenia powszechnie stosowaną na świecie, na przestrzeni lat systematycznie zwiększa się liczba dawców szpiku. Procedura ta jest niejednokrotnie jedyną metodą leczenia chorób nowotworowych oraz nienowotworowych. Wyróżnia się transplantację autologiczną (*ang. autologous hematopoietic stem cell transplantation – auto-HSCT*), w którym materiałem przeszczepowym są komórki pacjenta oraz transplantację allogeniczną (*ang. allogeneic hematopoietic stem cell transplantation – allo-HSCT*) komórek pochodzących od dawcy. Celem allogenicznego przeszczepienia komórek hematopoetycznych jest w przypadku chorób nienowotworowych całkowite lub częściowe zastąpienie niewydolnych komórek krwiotwórczych biorcy. W przypadku chorób nowotworowych, w celu usunięcia nieprawidłowych klonów komórek stosuje się megachemioterapię/radioterapię z następową infuzją komórek hematopoetycznych dawcy. Efekt przeszczepienia szpiku jest związany z reakcją przeszczep przeciw białaczce (*ang. graft versus leukemia - GvL*) uwarunkowaną m.in. przeszczepionymi limfocytami T oraz komórkami naturalnej odporności (*ang. NK cells*)[4]. Niestety, procedura allo-HSCT jest również związana z ryzykiem wystąpienia niepowodzenia terapii pod postacią nawrotu choroby podstawowej oraz NRM. Niemniej, postęp w typowaniu antygenów HLA, precyzyjny dobór dawców, opracowanie standardów chemioterapii oraz postępowania przeszczepowego, w tym leczenia i profilaktyki powikłań infekcyjnych i nieinfekcyjnych, przyczyniły się do znaczącego zmniejszenia śmiertelności pacjentów poddanych procedurze allo-HSCT.

3.3. RYS HISTORYCZNY

Obecny rozwój transplantologii ma swoje początki od około 1900 roku, kiedy to odkrycie grup krwi przed Landsteinerem przyczyniło się do przeprowadzania udanych transfuzji krwi[5]. Pierwsze podanie komórek szpiku przeprowadziła grupa badaczy Osgood, Riddle i Mathews u pacjenta z anemią aplastyczną w 1939 roku[6]. W czasie II wojny światowej, kiedy użyto

bomby atomowej, wiedza na temat transplantacji zwiększyła się także o zgromadzone dane na temat wpływu promieniowania na szpik kostny. Następnie, w latach 50. XX wieku, opisano możliwość leczenia pancytopenii u zwierząt poddanych transplantacji szpiku kostnego, uprzednio napromienianych[7]. W 1956 roku Barnes i Loutit opisali po raz pierwszy objawy reakcji przeszczep przeciwko gospodarzowi u myszy, która po napromienianiu z następowym przeszczepieniem krwiotwórczych komórek została wyleczona z aplazji, jednak rozwinęła biegunkę, utratę masy ciała, zmiany skórne oraz zaburzenia wątrobowe co w konsekwencji doprowadziło do jej śmierci[8]. Opisu warunków, jakie powinny być spełnione przy rozpoznaniu GVHD, dokonał dziesięć lat później Billingham uwzględniając następujące: przeszczepiony szpik musi zawierać komórki immunokompetentne, biorca nie może być zdolny do skutecznej reakcji odrzucenia lub wyeliminowania przeszczepionych komórek, biorca musi wykazywać ekspresję antygenów tkankowych, które nie są obecne u dawcy przeszczepu[9]. Również badania E. Donnalla Thomasa znacząco przyczyniły się do rozwoju transplantacji szpiku, a przeprowadzone przez naukowca przeszczepienie w 1957 roku, uważane jest za pierwszą allogeniczną transplantację komórek hematopoetycznych u człowieka[10]. W związku ze swoim niepodważalnym wkładem w rozwój tej metody leczenia białaczki E. Donnall Thomas został nagrodzony w 1990 roku Nagrodą Nobla w dziedzinie medycyny[11]. Pierwsze udane przeszczepienie komórek hematopoetycznych u pacjenta z niedoborem odporności został natomiast przeprowadzony przez R.A. Gatti i wsp. w 1968 roku[12]. Począwszy od lat 70. XX wieku obserwowano poprawę przeżywalności u pacjentów poddanych procedurze transplantacji szpiku, co było związane z odkryciem układu zgodności tkankowej (ang. *Human Leukocyte Antigen - HLA*), a w konsekwencji możliwością lepszego doboru dawców. W 1974r. powstała Europejska Grupa Przeszczepiania Krwi i Szpiku (ang. *European Group for Blood and Marrow Transplantation - EBMT*) umożliwiająca promocję wiedzy związanej z przeszczepianiem komórek hematopoetycznych oraz standaryzacji procedur przeszczepowych. Polacy również mieli swój wkład w rozwój transplantologii. Mimo iż przyjmuje się, że pierwsza transplantacja komórek hematopoetycznych na świecie została przeprowadzona w 1939 roku przez zespół Osgood, Riddle i Mathews, to istotnym historycznie jest fakt, że już w 1938 r. Jan Rosenbusch (po wojnie nazywany Jan Stefan Raszek) i Franciszek Groer na Uniwersytecie Jana Kazimierza we Lwowie, wstrzykiwali chorym szpik pobrany od osób zdrowych. Niemniej, w Polsce pierwsza udana transplantacja komórek krwiotwórczych została przeprowadzona przez zespół prof. Wiesława W. Jędrzejczaka 28 listopada 1984 roku.

Biorcą komórek hematopoetycznych była 6-letnia dziewczynka z rozpoznaną niedokrwistością Diamonda-Blackfana, dawcą była siostra pacjentki zgodna w zakresie HLA I klasy[13].

3.4. ŹRÓDŁA KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH

Początkowo przeszczepienia komórek krwiotwórczych dokonywano stosując jako jedyne ich źródło szpik kostny (ang. *bone marrow* - *BM*). Obecnie, w celu uzyskania komórek hematopoetycznych wykorzystywanych do przeprowadzenia procedury HSCT, wykorzystuje się również krew obwodową (ang. *peripheral blood stem cells* - *PBSC*) oraz krew pępowinową (ang. *cord blood* - *CB*). Pierwsza zakończona sukcesem transplantacja krwiotwórczych komórek ze szpiku kostnego została przeprowadzona w 1968 roku, z krwi pępowinowej w 1988 roku, natomiast pierwsze doniesienie o zastosowaniu krwi obwodowej jako źródła materiału przeszczepowego pochodzi już z 1986 roku[12]–[14]. Komórki hematopoetyczne ze szpiku kostnego pobierane są metodą wielokrotnych nakłuć głównie z talerza biodrowego, co jest związane z możliwością powikłań podczas znieczulenia ogólnego lub miejscowego, a dodatkowo w przypadku różnicy masy ciała dawcy i biorcy, mogą pojawić się trudności w uzyskaniu odpowiedniej ilości komórek CD34+. Niemniej, ilość limfocytów T jest niższa niż w przypadku PBSC co jest związane z mniejszym ryzykiem wystąpienia choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi[15]. Komórki hematopoetyczne z krwi obwodowej pobierane są metodą aferezy po etapie tzw. mobilizacji, w którym dawcy podaje się czynnik wzrostu kolonii granulocytarnych (ang. *granulocyte colony stimulating factor* – *G-CSF*). Metoda ta uważana jest za bezpieczną, jednak opisano pojedyncze przypadki ciężkich powikłań takich jak ostre uszkodzenie płuc[16]. Zaletą stosowania krwi obwodowej jako źródła komórek hematopoetycznych jest uzyskiwanie większej ich ilości, szybsza odbudowa immunologiczna, mniejsze ryzyko wznowy oraz przeprowadzanie zabiegu bez konieczności znieczulenia[15], [17].

3.5. DAWCY KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH

Główny układ zgodności tkankowej (ang. *major histocompatibility complex* - *MHC*), odpowiadający za prezentację antygenów limfocytom, odgrywa ważną rolę przy doborze dawców komórek krwiotwórczych. MHC składa się z trzech klas genów, znajdujących się u ludzi na chromosomie 6 oraz ich produktów, do których należą ludzkie antygeny tkankowe HLA. Cząsteczki klasy I zawierają HLA A, B i C; klasa druga zawiera DRB1, DRB3/4/5, DQB1, DPB1; do klasy III zalicza się geny składników dopełniacza (C2, C4A, C4B,

Bf), białka szoku cieplnego (HSP70), białka rodziny TNF[18], [19]. Antygeny zgodności tkankowej odpowiadają za indukowanie odpowiedzi odpornościowej poprzez prezentację antygenów receptorom komórek T (ang. *T-cell receptor - TCR*) oraz rozpoznawanie fragmentów obcych cząsteczek HLA[20]. Podczas typowania dawcy, uwzględnia się antygeny: HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DQ oraz HLA-DPB1[21]. Rozróżnia się genotypowanie HLA o niskiej, pośredniej oraz wysokiej rozdzielczości. Genotypowanie HLA o niskiej rozdzielczości określa grupę alleli o zbliżonej sekwencji, podczas gdy genotypowanie HLA o wysokiej rozdzielczości umożliwia uzyskanie informacji o fragmencie allelu HLA kodującym sekwencję aminokwasów w cząsteczce HLA. Najbardziej optymalnym dawcą pod względem zgodności tkankowej jest biologiczne rodzeństwo pacjenta. W przypadku jego braku, poszukuje się dawców niespokrewnionych. W tym przypadku niezbędne jest genotypowanie na poziomie wysokiej rozdzielczości[20]. Różnice w głównych antygenach tkankowych związane są z wystąpieniem reakcji przeszczep przeciwko białaczce co pozwala na wybór dawcy charakteryzującego się niewielką niezgodnością w przypadku biorców z chorobami nowotworowymi. Wśród pacjentów przeszczepianych z powodu chorób nienowotworowych najbardziej pożądanym dawcą jest dawca zgodny w 10/10 allelach[21]. Oprócz reakcji przeszczep przeciwko białaczce, niezgodność antygenowa w układzie HLA wpływa na wzrost ryzyka wystąpienia aGVHD stanowiąc istotne ograniczenie procedury przeszczepowej przy braku zgodnego dawcy[22]. Wyróżnia się następujące rodzaje dawców komórek hematopoetycznych: zgodny dawca rodzinny (ang. *matched family donor - MFD*), zgodny dawca niespokrewniony (ang. *matched unrelated donor - MUD*), częściowo zgodny dawca niespokrewniony (ang. *mismatched unrelated donor - MMUD*), dawca haploidentyczny[23].

Zgodność dawcy i biorcy pod względem grupy krwi, podobnie jak płci nie jest konieczna. Niemniej, istnieją doniesienia, że u biorców płci męskiej występuje wyższe ryzyko wystąpienia ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi jeśli dawcą jest kobieta w przypadku gdy zastosowano kondycjonowanie o obniżonej intensywności[24].

U wszystkich dawców przeprowadzane są badania mające na celu wykluczenia infekcji m.in.: ludzkim wirusem niedoboru odporności (ang. *Human Immunodeficiency Virus - HIV*), wirusem cytomegalii (ang. *cytomegalovirus - CMV*), wirusami ludzkiej białaczki z komórek T 1 i 2 (ang. *Human T-lymphotropic virus type 1 and 2 - HTLV1 i 2*), wirusem Epsteina Barr (ang. *Epstein-Barr virus - EBV*), wirusowym zapaleniem wątroby, toksoplazmozą, kiłą[25]. Dawca musi

wyrazić świadomą i pisemną zgodę na pobranie komórek hematopoetycznych oraz musi być zbadany fizykalnie bez lekarza. W przypadku gdy dawcą komórek hematopoetycznych jest dziecko, zgodę musi wyrazić opiekun prawny oraz, w Polsce, Sąd Rodzinny.

3.6. KONDYCJONOWANIE PRZED TRANSPLANTACJĄ KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH

Bezpośrednio przed przeszczepieniem komórek hematopoetycznych stosuje się leczenie kondycjonujące. Kondycjonowanie ma na celu zniszczenie komórek szpiku biorcy jako element leczenia choroby podstawowej, w tym np. przetrwałych komórki białaczkowych oraz wytłumienia układu odpornościowego, aby zmniejszyć ryzyko odrzucenia przeszczepionych komórek hematopoetycznych. Wyróżnia się dwa główne rodzaje kondycjonowania: megachemioterapię (bardzo wysokie dawki chemioterapii) lub napromieniowanie całego ciała (ang. *Total Body Irradiation - TBI*) w połączeniu z chemioterapią. Rodzaj i intensywność zastosowanego kondycjonowania zależą od wielu czynników takich jak choroba podstawowa, wiek pacjenta, choroby współistniejące. W zależności od intensywności kondycjonowania wyróżnia się następujące rodzaje: konwencjonalne kondycjonowanie mieloablacyjne (ang. *myeloablative conditioning - MAC*), kondycjonowanie o zredukowanej intensywności (ang. *reduced-intensity conditioning - RIC*) oraz kondycjonowanie niemieloablacyjne. W porównaniu do konwencjonalnego mieloablacyjnego kondycjonowania, RIC związane jest z niższym ryzykiem wystąpienia toksyczności, co umożliwiła przeprowadzanie procedury allo-HSCT m.in. u pacjentów obciążonych chorobami współistniejącymi oraz u osób starszych. Kondycjonowanie o zredukowanej intensywności, podobnie jak kondycjonowanie mieloablacyjne, wywołuje wystarczającą immunosupresję chroniąc przed odrzucaniem przeszczepu oraz wywołuje reakcję przeszczep przeciwko chorobie. Kondycjonowanie mieloablacyjne składa się zazwyczaj z połączenia napromieniowania całego ciała z chemioterapią lub z samej chemioterapii złożonej zwykle z połączenia leków takich jak busulfan, cyklofosfamid, fludarabina[26]. Kondycjonowanie o zredukowanej intensywności złożone jest zazwyczaj z połączenia fludarabiny ze zredukowanymi dawkami leków takich jak busulfan, treosulfan, melfalan, tiotepa. Kondycjonowanie niemieloablacyjne składa się z TBI o zredukowanej dawce w połączeniu (lub bez) z fludarabiną, cyklofosfamidem, globuliną antytymocytową (ang. *antithymocyte globulin - ATG*), z immunosupresyjnym działaniem mykofenolanu mofetilu lub cyklosporyny [27], [28].

3.7. TRANSPLANTACJA KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH U DZIECI

Przeszczepienie komórek krwiotwórczych u dzieci wymaga odrębnego podejścia ze względu na fazę intensywnego wzrostu, w którym się znajdują oraz wpływie powikłań procedury przeszczepowej na jakość ich życia. Dla biorcy pediatrycznego potrzebna jest mniejszej ilości komórek krwiotwórczych CD34+ wymaganych do procesu transplantacji niż dla biorcy dorosłego[21]. Ilość komórek w przeliczeniu na ciężar ciała biorcy różni się w zależności od źródła przeszczepu, jest ona ściśle określona, co ma związek m.in. ze wzrostem ryzyka odrzutu w przypadku jej niespełnienia[21]. Po transplantacji komórek hematopoetycznych, poza aspektami psychologicznymi takimi jak np. występowanie zaburzeń emocjonalnych czy depresji, u dzieci i młodzieży występują powikłania związane przede wszystkim z rozwojem dziecka. Należą do nich: większe ryzyko uszkodzenia rozwijających się narządów, opóźniony rozwój hormonalny, zaburzenia wzrastania, zwiększenie ryzyka wystąpienia nowotworu w przyszłości w przypadku niektórych chorób[22].

Wskazaniami do transplantacji komórek hematopoetycznych u dzieci są choroby nowotworowe oraz nienowotworowe. Do chorób nowotworowych, w których leczeniu stosuje się HSCT zaliczamy: ostrą białaczkę limfoblastyczną (ang. *acute lymphoblastic leukaemia* - ALL), ostrą białaczkę szpikową (ang. *acute myeloid leukaemia* - AML), przewlekłą białaczkę szpikową (ang. *chronic myeloid leukaemia* - CML), zespół mielodysplastyczny (ang. *myelodysplastic syndrome*, - MDS) i młodzieńczą białaczkę mielomonocytową (ang. *juvenile myelomonocytic leukaemia*, - JMML), chłoniaka Hodgkina (ang. *Hodgkin lymphoma* - HL) oraz chłoniaki nieziarnicze (ang. *non-Hodgkin lymphoma* - NHL). Dodatkowo, w przypadku guzów litych, auto-HSCT przeprowadza się w nowotworach germinalnych (ang. *Germ cell tumours*), nerczaku zarodkowym (ang. *nefroblastoma*), nerwiaku zarodkowym (ang. *neuroblastoma*), mięsaku Ewinga oraz guzach mózgu. Wśród chorób nienowotworowych, które mogą być wskazaniem do HSCT, należy wymienić pierwotne niedobory odporności, mukopolisacharydozy (I, II), talasemie, niedokrwistość sierpowatokrwinkową, osteopetrozę, anemię aplastyczną oraz zespoły wrodzonej niewydolności szpiku kostnego (ang. *inherited bone marrow failure syndromes* - IBMFS)[22].

3.8. POWIKŁANIA PO TRANSPLANTACJI KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH

Mimo ciągłego rozwoju procedury HSCT, w tym udoskonalenia doboru dawców komórek krwiotwórczych, szerszego wachlarza leczenia kondycjonującego i immunosupresyjnego oraz

stosowania odpowiedniej profilaktyki infekcyjnej, powikłania po transplantacji komórek hematopoetycznych wciąż stanowią ograniczenie tej metody leczenia. Wiele czynników ma wpływ na powodzenie procedury HSCT m.in. choroba podstawowa pacjenta, wcześniejsze leczenie, stan ogólny chorego oraz sam proces transplantacji związany z toksycznością stosowanego kondycjonowania, immunosupresją oraz reakcjami immunologicznymi. Do wczesnych powikłań (pojawiających się do dnia +100 po HSCT) zaliczamy m.in. zaburzenia hematologiczne, uszkodzenia błony śluzowej przewodu pokarmowego, infekcje (wirusowe, bakteryjne, grzybicze), niewydolność wielonarządową, zespół niedrożności zatokowej (*ang. sinusoidal obstruction syndrome - SOS*), aGVHD. Późne powikłania to przewlekła postać choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (*ang. chronic graft-vs.-host disease - cGVHD*), zaburzenia w układzie sercowo-naczyniowym, osteoporoza, powikłania neurologiczne, okulistyczne, hormonalne i metaboliczne [29]. Po procedurze HSCT wystąpić mogą również zaburzenia o charakterze zespołów uszkodzeń śródbłonka naczyniowego, do których zaliczamy m.in. zespół przesiąkania śródbłonka, mikroangiopatię zakrzepową (*ang. transplant-associated microangiopathy – TAM*) oraz chorobę wenookluzyjną wątroby.

3.8.1. Choroba wenookluzyjna wątroby

Choroba wenookluzyjna wątroby (*ang. hepatic veno-occlusive disease - VOD*), nazywana również zespołem niedrożności zatokowej wątroby (*ang. sinusoidal obstruction syndrome - SOS*), występuje u ok. 20-60% dzieci po przeszczepieniu komórek hematopoetycznych. Powikłanie to należy do zaburzeń śródbłonka i stanowi zagrożenie życia. Do przyczyn wystąpienia SOS zalicza się chemioterapię (przede wszystkim stosowanie wysokich dawek busulfanu), radioterapię, rzadziej przeszczep wątroby, czy uszkodzenia toksyczne. Choroba wenookluzyjna wątroby związana jest z uszkodzeniem śródbłonka zatokowego z mikrozakrzepicą i aktywacją cytokin. W wyniku tych procesów dochodzi do upośledzenia funkcji narządów, małopłytkowości odpornej na transfuzje, przyrostu masy ciała, powiększenia wątroby, wodobrzusza oraz wzrostu stężenia bilirubiny[30], [31]. Rozpoznanie VOD/SOS u dzieci dokonuje się na podstawie kryteriów zaproponowanych przez Europejską Grupę Przeszczepiania Krwi i Szpiku. W swoich kryteriach EBMT zwraca uwagę na brak ograniczeń czasowych w rozpoznaniu VOD u pacjentów pediatrycznych, kładzie nacisk na dynamikę zmian w stężeniu bilirubiny bez konieczności osiągnięcia konkretnej wartości oraz włącza oporną małopłytkowość ze zużycia (*ang. refractory thrombocytopenia - RT*) jako jedno z kluczowych kryteriów diagnostycznych (Tabela 1)[30].

Tabela 1. Kryteria diagnostyczne VOD/SOS u dzieci wg EBMT[30]

<p>Brak ograniczeń czasowych w rozpoznaniu SOS/VOD</p> <p>Obecność przynajmniej dwóch spośród poniższych^a:</p> <ul style="list-style-type: none">- Niewyjaśniona, oporna na transfuzje małopłytkowość^b- Niewyjaśniony przyrost masy ciała przez trzy kolejne dni pomimo stosowania leków moczopędnych lub przyrost masy ciała >5% powyżej wartości wyjściowej- Hepatomegalia (najlepiej potwierdzona metodą obrazową)- Wodobrzusze (najlepiej potwierdzone metodą obrazową)^c- Zwiększenie bilirubiny poza wartość wyjściową lub wzrost bilirubiny ≥ 2 mg/dl w ciągu 72h
<p>^apo wykluczeniu innych przyczyn</p> <p>^b≥ 1 substytucja płytek krwi dostosowana do masy ciała/dzień.</p> <p>^csugeruje się wykonanie USG, TK lub MRI bezpośrednio przed HSCT w celu określenia wartości wyjściowej zarówno dla hepatomegalii, jak i wodobrzusza</p>

3.8.2. Infekcje

Immunosupresja oraz neutropenia, występujące u biorców komórek hematopoetycznych, są nieodzownym elementem towarzyszącym procedurze allo-HSCT. W połączeniu z uszkodzeniem bariery skórno-słuzówkowej przez toksyczności leczenia kondycjonującego, powodują duże ryzyko wystąpienia infekcji przede wszystkim wirusowych, bakteryjnych oraz grzybiczych. Infekcje bakteryjne są spowodowane przez bakterie Gram dodatnie (koagulazoujemne gronkowce, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus viridians*), bakterie Gram ujemne (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium difficile*), *Haemophilus influenzae*, *Nocardia*. Czynnikiem chorobotwórczymi wywołującymi infekcje grzybicze są natomiast *Candida*, *Aspergillus*, *Pneumocystis jirovecii*[32]. W przypadku infekcji wirusowych, wyróżniamy dwa jej typy: reaktywację utajonej formy albo zakażenie nabyte. Reaktywacja utajonej formy dotyczy głównie: adenowirusa (ADV), wirusa BK (BKV), wirusów z rodziny Herpes, takich jak Cytomegalowirus (CMV), wirusa Ebsteina-Barr (EBV), wirus opryszczki zwykłej (HSV), wirusa ospy wietrznej i półpaśca (VZV), ludzkiego wirusa Herpes typu 6 (HHV-6). Nabyte

zakażenia są związane przede wszystkim z zakażeniem wirusem RSV, wirusem grypy, wirusem paragrypy, wirusem SARS-CoV-2 oraz metapneumowirusem ludzkim (HMPV)[33].

3.8.3. Choroba przeszczep przeciw gospodarzowi

Chorobę przeszczep przeciwko gospodarzowi charakteryzuje zespół objawów związanych z odpowiedzią allogenicznych komórek dawcy na antygeny zgodności tkankowej biorcy przeszczepu. Jest ona chorobą wielosystemową dotyczącą głównie skóry, wątroby oraz przewodu pokarmowego[34]. U pacjentów poddanych procedurze allo-HSCT jest jedną z głównych przyczyn NRM[35]. Choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi występuje u około 30–80% pacjentów po HSCT, a ryzyko jej wystąpienia u dzieci jest niższe niż u osób dorosłych[1], [36]. Powikłanie to występuje zwykle od dwóch do ośmiu tygodni po przeszczepieniu komórek hematopoetycznych[35]. Czynniki, które zwiększają ryzyko wystąpienia aGVHD są następujące: niezgodność w antygenach HLA dawcy i biorcy, dawca niespokrewniony, dysproporcja między wiekiem dawcy i biorcy, niezgodność między płcią dawcy i biorcy, rodzaj kondycjonowania, krew obwodowa jako źródło komórek macierzystych, serostatus CMV biorcy i dawcy[2].

3.8.3.1. Patofizjologia ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi

Badania nad patofizjologią ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi prowadzone są do dziś, wiadomo jednak, że jest to proces złożony z trzech faz. W fazie pierwszej dochodzi do uszkodzenia tkanek, w tym śluzówki jelita, w wyniku choroby podstawowej oraz jej leczenia, zastosowanego kondycjonowania oraz infekcji towarzyszących. W konsekwencji uwalniane są do krwiobiegu cytokiny prozapalne takie jak czynnik martwicy nowotworów (ang. *Tumor necrosis factor -TNF*), interleukina 1 (ang. *Interleukin 1 - Il-1*) oraz lipopolisacharyd (ang. *Lipopolysaccharide - LPS*), powodując aktywację komórek prezentujących antygen oraz wzmacniając reakcję limfocytów T, co nazywane jest fazą drugą[9]. Ostatnia faza związana jest z uszkodzeniem tkanek jako wynik zaktywowanych limfocytów T[37]. LPS jest endotoksyną, stanowiącą składową bakterii Gram-ujemnych, która bierze udział w odpowiedzi zapalnej jelit[38]. Najnowsze badania wskazują, że większe znaczenie niż LPS w rozwoju GVHD może mieć mikrobiota, wpływająca na lokalną tolerancję immunologiczną oraz aktywacja receptorów Toll-podobnych (ang. *Toll-like receptors - TLR*) i NOD-podobnych (ang. *NOD-like receptors - NLR*)[9]. Dodatkowo, uszkodzenie tkanek przez kondycjonowanie prowadzi do uwolnienia innych mediatorów, takich jak kwas moczowy i metabolity szlaku adenozyntrifosforanu[39]. Zwiększa się ekspresja antygenów MHC oraz cząsteczek

adhezyjnych na komórkach biorcy, umożliwiając prezentację antygenów przez komórki prezentujące antygen (ang. *antigen presenting cell- APC*) zarówno biorcy jak i dawcy[40]. W odpowiedzi na niezgodność HLA między dawcą a biorcą dochodzi do aktywacji limfocytów T. Podczas gdy limfocyty CD4+ związane są z MHC klasy II (HLA-DR, -DQ, and -DP), limfocyty CD8+ związane są z MHC klasy I (HLA-A, -B, and -C). Co więcej, GVHD może być wywołane również przez niezgodność w „mniejszych” antygenach HLA (ang. *minor HLA*) będącymi epitopami limfocytów T, co tłumaczy możliwość wystąpienia GVHD u zgodnych dawców rodzinnych. Toczący się proces zapalny ulega wzmocnieniu poprzez stymulowanie odpowiedzi komórek naturalnej odporności (ang. *natural killers - NK*) oraz limfocytów cytotoksycznych (ang. *cytotoxic T lymphocytes - CTLs*) powodując dalsze niszczenie tkanek[9].

3.8.3.2. Objawy ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi

Ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi związana jest z wystąpieniem objawów klinicznych w obrębie skóry, wątroby lub/oraz jelit. Zmiany skórne mogą występować pod wieloma postaciami takimi jak wysypka plamista, grudkowa, rumieniowa, pęcherzowa, a w skrajnych przypadkach pojawić się może martwica naskórka. Postać wątrobowa aGVHD przejawia się hiperbilirubinemią wynikającą z żółtaczką cholestatyczną z towarzyszącym podwyższonym stężeniem transaminaz wątrobowych. Postać żołądkowo-jelitowa ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi dotyczy zarówno górnego jak i dolnego odcinka przewodu pokarmowego, objawia się biegunką, dyspepsją, bólami brzucha, wymiotami, krwawieniem do przewodu pokarmowego, utratą masy ciała, niedrożnością przewodu pokarmowego[2], [41].

3.8.3.3. Rozpoznanie i rodzaje ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi

Początkowo przyjmowano arbitralnie ustaloną liczbę 100 dni od procedury allo-HSCT do wystąpienia objawów choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi, przed upływem których, mówiono o aGVHD. Objawy występujące powyżej 100 dni od allo-HSCT uznawano za przewlekłe cGVHD. Obecnie wiadomo, że ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi może wystąpić po upływie 100 dni od przeszczepienia komórek hematopoetycznych, co może być związane między innymi z zastosowaniem kondycjonowania o obniżonej intensywności. W związku z tym uznaje się, że charakter objawów ma większe znaczenie niż ich kryterium czasowe[42]. Z tego powodu Narodowy Instytut Zdrowia (ang. *the National Institutes of Health -NIH*) poza klasyczną formą aGVHD występującą w ciągu 100 dni od przeszczepienia komórek hematopoetycznych, wyróżnia formy ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi

występujące później, takie jak postać przetrwała aGVHD (ang. *persistent aGvHD*), nawracająca (ang. *recurrent aGvHD*) oraz aGVHD o późnym początku (ang. *late-onset aGVHD*)[43].

Rozpoznanie ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi opiera się na stwierdzeniu zajęcia jednego z trzech najczęściej dotkniętych przez chorobę narządów: skóry, wątroby lub przewodu pokarmowego oraz wykluczeniu objawów cGVHD. Przewlekła choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi zazwyczaj dotyczy pozostałych narządów i oprócz skóry, wątroby, przewodu pokarmowego, obejmować może jamę ustną, oczy, płuca, układ kostno-szkieletowy, układ rozrodczy. Rozpoznanie aGVHD opiera się na ocenie klinicznej, wynikach badań laboratoryjnych oraz badaniach obrazowych pozwalających wykryć ewentualne inne przyczyny objawów występujących u pacjentów poddanych procedurze allo-HSCT. W przypadku wątpliwości diagnostycznych rozpoznanie aGVHD powinno być potwierdzone wykonaniem biopsji z badaniem histopatologicznym[41]. Ograniczeniem biopsji diagnostycznej jako standardu rozpoznawania ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi jest m.in. możliwość uzyskania wyników fałszywie ujemnych w przypadku zmian bardzo wczesnych oraz fałszywie dodatnich podczas toczącej się infekcji lub spowodowanych zmianami toksycznymi powstałymi w wyniku leczenia kondycjonującego[44]. Wykonanie biopsji diagnostycznej może być także niemożliwe ze względu na zły stan ogólny chorego.

Ponad pięć dekad temu Glucksberg zaproponował pierwszy podział choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi[41]. Powszechnie stosowany podział aGVHD, w zależności od nasilenia zajęcia skóry, jelit oraz wątroby, opiera się na zmodyfikowanych kryteriach Glucksberga oraz skali według Międzynarodowego Rejestru Transplantacji Szpiku Kostnego (ang. *International Bone Marrow Transplantation Registry - IBMTR*). U pacjentów pediatrycznych w ocenie nasilenia biegunki całkowita objętość stolca została zastąpiona objętością stolca przeliczoną na kilogram masy ciała[36] (Tabela 2). Powstało wiele innych propozycji klasyfikacji ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi o czym świadczą m.in. kryteria "Keystone" oraz kryteria międzynarodowego konsorcjum Mount Sinai Acute GVHD "MAGIC" (ang. *Mount Sinai Acute GVHD International Consortium - MAGIC*). Grupa ekspertów z Europejskiej Grupy Przeszczepiania Krwi i Szpiku, Narodowego Instytutu Zdrowia oraz Centrum Międzynarodowych Badań Przeszczepów Krwi i Szpiku (EBMT-NIH-

CIBMTR) w 2018 roku zarekomendowała kryteria "MAGIC" jako najbardziej optymalne (Tabela 3)[41].

Tabela 2. Ocena nasilenia aGVHD wg zmodyfikowanej skali Glucksberga oraz skali wg IBMRT uwzględniając kryteria Jacobsohna stosowane u pacjentów pediatrycznych[36], [41], [45]

	Skóra	Wątroba	Jelita
Stopniowanie narządowe			
0	Brak zajęcia skóry	Bilirubina < 2.0mg/dl	Biegunka z objętością stolca < 500m ³ /dzień; dzieci <10ml/kg/dzień
1	Wysypka zajmująca <25% powierzchni ciała	Bilirubina 2.0-2.9mg/dl	Biegunka z objętością stolca 500-999m ³ /dzień, (dzieci 10-19.9ml/kg/dzień) lub zajęcie górnego odcinka przewodu pokarmowego potwierdzone biopsyjnie
2	Wysypka zajmująca 25-50% powierzchni ciała	Bilirubina 3.0-6.0 mg/dl	Biegunka z objętością stolca 1000-1500m ³ /dzień ; dzieci 20-30ml/kg/dzień

3	Wysypka zajmująca >50% powierzchni ciała	Bilirubina 6.1-15mg/dl	Biegunka z objętością stolca >1500m3/dzień; dzieci >30ml/kg/dzień
4	Uogólniona erytrodermia z pęcherzami	Bilirubina > 15mg/dl	ostry ból brzucha +/- niedrożność
Stopniowanie ogólne			
I	Stopień 1	-	-
II	Stopień 2 oraz/lub	Stopień 1-2 oraz/lub	Stopień 1-2
III	Stopień 3 oraz/lub	Stopień 3 oraz/lub	Stopień 3
IV	Stopień 4 oraz/lub	Stopień 4 oraz/lub	Stopień 4

Tabela 3. Ocena nasilenia aGVHD wg kryteriów „MAGIC”[46]

	Skóra	Wątroba	Górny odcinek przewodu pokarmowego	Dolny odcinek przewodu pokarmowego (objętość stolca/dobę)
Stopniowanie narządowe				
0	Brak zajęcia skóry	Bilirubina < 2.0mg/dl	Brak objawów lub okresowe nudności, wymioty, anoreksja	Biegunka z objętością stolca < 500ml/dobę lub <3 epizody biegunki/dobę; dzieci: <10ml/kg/dobę lub <4 epizody biegunki/dobę
1	Wysypka zajmująca <25% powierzchni ciała	Bilirubina 2.0-3.0mg/dl	Uporczywe nudności, wymioty lub anoreksja	Biegunka z objętością stolca 500-999ml/dobę lub 3-4 epizody biegunki/dobę; dzieci: 10-19.9ml/kg/dobę lub 4-6 epizody biegunki/dobę
2	Wysypka zajmująca 25-50% powierzchni ciała	Bilirubina 3.1-6.0 mg/dl	-	Biegunka z objętością stolca 1000-1500ml/dobę lub 5-7 epizody biegunki/dobę; dzieci: 20-30ml/kg/dobę lub 7-10 epizody biegunki/dobę

3	Wysypka zajmująca >50% powierzchni ciała	Bilirubina 6.1-15mg/dl	-	Biegunka z objętością stolca >1500ml/dobę lub >7 epizody biegunki/dobę; dzieci: >30ml/kg/dobę lub >10 epizody biegunki/dobę
4	Uogólniona erythrodermia z pęcherzami i złuszczeniem zajmującymi >5% powierzchni ciała	Bilirubina > 15mg/dl	-	Ostry ból brzucha +/- niedrożność lub krwawe stolce
Stopniowanie ogólne				
0	Brak zajęcia narządów w jakimkolwiek stopniu			
I	Stopień 1-2	-	-	-
II	Stopień 3 oraz/lub	Stopień 1 oraz/lub	Stopień 1 oraz/lub	Stopień 1
III	Stopień 0-3	Stopień 2-3 oraz/lub	Stopień 1 oraz/lub	Stopień 2-3
IV	Stopień 4 lub	Stopień 4 lub	Stopień 0-1	Stopień 4

3.8.3.4. Profilaktyka i leczenie aGVHD

U pacjentów poddawanych procedurze allo-HSCT stosuje się profilaktyczną immunosupresję, której celem jest zmniejszenie aktywacji limfocytów T obniżając tym samym ryzyko odrzucenia przeszczepu oraz rozwoju choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi[9]. Stosuje się leki takie jak: cyklosporyna A, metotreksat, mykofenolan mofetilu, takrolimus, ATG. Globulina antytymocytowa to poliklonalne przeciwciała IgG uzyskane od konia lub królika (poprzez immunizację ludzkimi tymocytami – np. Thymoglobulina®; z zastosowaniem linii komórek T-Jurkat – np. ATG-Fresenius, Grafalon®)[47]. Mimo zastosowania profilaktycznej immunosupresji około połowa pacjentów wymaga zastosowania leczenia ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi[1]. Lekami pierwszego rzutu stosowanymi w leczeniu aGVHD są kortykosteroidy, standardowo prednizolon lub metyloprednizolon w dawce 1-2mg/kg/dobę. Wysokie dawki kortykosteroidów wiążą się jednak z ryzykiem wystąpienia powikłań takich jak: infekcje oportunistyczne, hiperglikemia, nadciśnienie tętnicze, zaburzenia nastroju[3]. Mimo włączenia sterydów u około 1/3 pacjentów, u których zdiagnozowano ostrą chorobę przeszczep przeciwko gospodarzowi po 5-7 dniach leczenia nie obserwuje się poprawy (ang. *steroid resistant aGVHD /steroid-refractory aGVHD - SR-aGVHD*)[37].

3.8.3.5. Sterydooporna postać aGVHD

U ponad 30% (do 60%) pacjentów u których zdiagnozowano ostrą chorobę przeszczep przeciwko gospodarzowi nie obserwuje się poprawy po włączeniu leczenia pierwszej linii tego powikłania, tj. po włączeniu wysokodawkowej sterydoterapii[1]. Nie ma jednoznacznej definicji sterydoopornej postaci aGVHD. Niemniej, SR-aGVHD diagnozuje się jeśli po 3 dniach terapii sterydowej pogarsza się stan kliniczny pacjenta, jeśli po 7 dniach nie obserwuje się odpowiedzi na terapię sterydową oraz jeśli ze względu na ponowne pojawianie się objawów aGVHD nie ma możliwości redukcji wysokich dawek steroidów, na które pacjent dobrze reaguje[37], [48]. W przypadku wystąpienia SR-aGVHD, stosuje się leczenie drugiej linii ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi: globulinę antytymocytową, mykofenolan mofetilu, takrolimus, sirolimus, przeciwciała monoklonalne (etanercept, basiliximab, vedolizumab), ruksolitynib, komórki mezenchymalne oraz fotoferezy pozaustrojowe[1].

3.9. BIOMARKERY

W wyniku postępu technologii pojawia się coraz więcej doniesień na temat potencjalnych markerów mogących mieć związek z powikłaniami występującymi po allo-HSCT, w tym z ostrą chorobą przeszczep przeciwko gospodarzowi. Biomarkery mogą potencjalnie ułatwić

wczesną diagnozę, a tym samym wpłynąć na efekt leczenia. Do użytku klinicznego najlepszy biomarker powinien być łatwy do oznaczenia w różnych punktach czasowych poprzez metodę nieinwazyjną taką jak np. pobranie próbki krwi lub moczu[49]. Narodowy Instytut Zdrowia dokonał podziału markerów na cztery grupy: markery diagnostyczne, które ułatwiają wczesne rozpoznanie, prognostyczne przewidujące rozwój choroby już rozpoznanej, predykcyjne przewidujące odpowiedź na zastosowaną terapię oraz biomarkery przypisane do ryzyka mogące przewidzieć rozwój choroby[50].

3.9.1. Białko ST2

Białko ST2 (ang. *suppression of tumorigenicity-2 – ST2, IL1RL1, DER4, T1, FIT-1*) jest glikoproteiną należącą do rodziny receptorów Interleukiny 1. Białko ST2 może występować w izoformie błonowej (ST2L lub ligand ST2) będącej receptorem dla IL-33 i ulegającej ekspresji na mastocytach oraz limfocytach Th2. Drugą postacią jest izoforma rozpuszczalna (sST2, soluble ST2) krążąca w surowicy, a wydzielana przez fibroblasty, komórki nabłonka oraz komórki śródbłonka. IL-33 wspólnie limfocytami Th2 mają związek z odpowiedzią immunologiczną indukując wydzielanie cytokin zapalnych. Izofornie te pełnią przeciwstawną rolę: izoforma błonowa bierze udział w indukcji odpowiedzi immunologicznej, w której uczestniczą limfocyty T, podczas gdy izoforma rozpuszczalna, wydzielana jako odpowiedź na czynniki zapalne, negatywnie reguluje funkcje IL-33[51]–[53]. Glikoproteina ST2 ma zdolność wiązania z makrofagami w odpowiedzi na ich aktywację LPS, co prowadzi do zmniejszenia syntezy cytokin prozapalnych[54]. Podwyższone stężenie sST2 stwierdza się w przypadku wystąpienia wielu schorzeń związanych ze stanem zapalnym tj.: sepsa, aGVHD, choroby sercowo-naczyniowe, choroby płuc, choroby o podłożu autoimmunizacyjnym, w tym astma[55], [56].

3.9.2. Białko REG3α

Białko REG3α (ang. *regenerating islet-derived 3 alpha - REG3α*) jest lektyną typu C wytwarzaną w jelicie oraz trzustce, która umożliwia wiązanie bakteryjnych peptydoglikanów[57], [58]. Badania *in vitro* potwierdziły redukujący wpływ REG3α na procesy zapalne w kryptach jelitowych[35]. Białko REG3α jest wydzielane głównie do światła jelit z małymi ilościami przemieszczającymi się do krążenia ogólnoustrojowego[58]. W przypadku uszkodzenia bariery nabłonkowej przewodu pokarmowego, w wyniku niszczenia komórek Panetha oraz wystąpienia stanu zapalnego, REG3α przemieszcza się do krążenia,

gdzie obserwuje się jego podwyższony poziom. Z tego powodu REG3 α można uznać za wskaźnik GI-GVHD, jak również chorób takich jak choroba trzewna lub choroba Crohna[58], [59].

3.9.3. Białko CD163

Białko CD163 (ang. *Cluster of Differentiation 163* – *CD163*) należy do receptorów zmiataczy i jest związane z procesem hemolizy, która oprócz zjawiska fizjologicznego, występuje w procesach autoimmunizacyjnych oraz zakaźnych[60]. Transbłonowe białko CD163 znajduje się na powierzchni monocytów i makrofagów oraz bierze udział w usuwaniu hemoglobiny pozakomórkowej poprzez wychwyt kompleksu Hb-haptoglobina lub bezpośrednią interakcję CD163-hemoglobina[61]. Niemniej, istnieją doniesienia, że CD163 ulega ekspresji także na komórkach dendrytycznych oraz komórkach blastycznych[62], [63]. Glikokortykosteroidy oraz cytokiny przeciwzapalne tj. IL-6, IL-10 indukują ekspresję receptora CD163 na monocytach i makrofagach, podczas gdy cytokiny zapalne tj. IL-4, TNF- α , IFN- γ oraz LPS ją obniżają. Wskazuje to więc na fakt, że CD163 jest związany z odpowiedzią przeciwzapalną[61], [64]. W wyniku konstytutywnego zrzucania z powierzchni komórek, białko CD163 krąży we krwi jako rozpuszczalna forma (ang. *soluble CD163* - *sCD163*), również u osób zdrowych[65]. W wielu dostępnych badaniach poszukuje się związku tego markera z wystąpieniem chorób o podłożu zapalnym oraz infekcyjnym, m.in ostrej i przewlekłej postaci choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi, sepsie, cukrzycy, chorobach reumatycznych[64], [66].

4. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

4.1. CEL PRACY

Celem pracy jest ocena związku pomiędzy stężeniem białek ST2, REG α oraz sCD163 w osoczu pacjentów poddanych procedurze allo-HSCT z wystąpieniem aGVHD, w tym sterydoopornej postaci tej choroby. Obecnie w praktyce klinicznej u pacjentów pediatrycznych nie stosuje się testów laboratoryjnych, które pozwoliłyby przewidzieć ostrą chorobę przeszczep przeciwko gospodarzowi, jej ciężki przebieg oraz oporność na leczenie pierwszej linii – leczenie kortykosteroidami. W związku z tym ustalono niżej wymienione cele pracy:

Pierwszorzędowe punkty końcowe:

1. Ustalenie związku pomiędzy stężeniem ST2, REG α i sCD163 w osoczu pacjentów w okresie poprzyszczepowym a wystąpieniem aGVHD.
2. Ustalenie związku pomiędzy stężeniem ST2, REG α i sCD163 w osoczu pacjentów w okresie poprzyszczepowym a wystąpieniem sterydoopornej postaci aGVHD.
3. Analiza związku pomiędzy stężeniem ST2, REG α i sCD163 w osoczu pacjentów w okresie poprzyszczepowym a przeżyciem całkowitym (ang. *overall survival* – OS) definiowanym jako czas od procedury allo-HSCT do zgonu lub ostatniej kontroli pacjenta wolnej od zdarzeń.
4. Analiza związku pomiędzy stężeniem ST2, REG α i sCD163 w osoczu pacjentów w okresie poprzyszczepowym a śmiertelnością niezwiązaną z nawrotem (ang. *non-relapse mortality* – NRM) definiowaną jako zgon, który pojawił się przy nieobecności progresji lub nawrotu choroby nowotworowej albo w ciągu 28 dni od procedury allo-HSCT.

Drugorzędowe punkty końcowe:

Analiza związku pomiędzy stężeniem ST2, REG α i sCD163 w osoczu pacjentów w okresie poprzyszczepowym, a pojawieniem się SOS, powikłań pulmonologicznych, powikłań kardiologicznych, powikłań krwotocznych, CLS oraz wznowy choroby podstawowej.

4.2. MATERIAŁY I METODY

Cele pracy doktorskiej zostały zrealizowane dzięki projektowi naukowemu pn. „ST2 i REG3alfa jako markery ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi u dzieci poddanych procedurze allogenicznego przeszczepienia komórek hematopoetycznych” w ramach środków finansowych Fundacji „Na Ratunek Dzieciom z Chorobą Nowotworową” na podstawie Umowy z Uniwersytetem Medycznym we Wrocławiu nr B/03/05/2020.

Badanie naukowe zostało zaakceptowane przez Komisję Bioetyki Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (Nr KB – 192/2020). Przed pobraniem próbek od opiekunów prawnych wszystkich pacjentów została pobrana pisemna i świadoma zgoda na przeprowadzenie badania zgodnie z Deklaracją Helsińską.

Niniejsze badanie to prospektywna analiza dotycząca 70 pacjentów w wieku do ukończenia 18 roku życia, którzy zostali poddani procedurze allo-HSCT w Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej we Wrocławiu w latach 2020-2022. Powikłania procedury transplantacyjnej były oceniane do minimum 7 miesięcy po allo-HSCT.

Badanie polegało na ocenie stężenia trzech białek (ST2, REG3 α i sCD163) w osoczu pacjentów poddanych procedurze allo-HSCT. W celu oceny ich stężenia zostały pobrane próbki heparynizowanego osocza w objętości 2ml w dobie +7 oraz w dobie +28 po allo-HSCT. Dodatkowe próbki osocza zostały pobrane od dzieci, u których wystąpiła ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi – w dniu jej rozpoznania (doba +1 aGVHD) i włączenia terapii sterydowej oraz w +7 dobie jej leczenia. Osocze zostało uzyskane poprzez odwirowanie z prędkością 1000 x g przez 15 minut. Próbki zostały przechowywane zgodnie z wytycznymi tj. niezwłocznie zamrożone w -80 stopniach Celsjusza. Pobrany materiał poddany był analizie w Katedrze Analityki Medycznej Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu za pomocą testu immunoenzymatycznego (ang. *enzyme-linked immunosorbent assay - ELISA*). Zastosowano pary przeciwciał wykonując pomiary zgodnie z protokołami producentów: ST2- R&D Systems (*Human ST2/IL-33R Quantikine Elisa Kit, Quantikine Immunoassay Control Set for Human ST2/IL-33R*); REG3 α - MBL International (*Ab-Match Assembly Human PAP1, Ab-Match Universal*); sCD163- Biomatik ELISA Kits (*Human soluble CD163 ELISA Kit*).

Z powodu błędów przedlabolatoryjnych, przeniesienia pacjentów na inne oddziały, śmierci pacjenta lub rozwinięcia objawów GVHD po wypisaniu do domu lub w innej Klinice u 6

(8.57%) pacjentów nie uzyskano pomiaru stężeń badanych białek w dobie +7 po allo-HSCT, u 10 (14.28%) pacjentów nie uzyskano pomiaru w dobie +28 po allo-HSCT, u 23 (32.86%) pacjentów nie uzyskano pomiaru w dobie rozpoznania GVHD, u 15 (21.43%) pacjentów nie uzyskano pomiaru w dobie +7 leczenia sterydami aGVHD. Należy zaznaczyć, że liczebność w niektórych podgrupach (pacjenci z rozpoznaniem aGVHD) była niska stąd istnieje ryzyko, że wnioski statystyczne mogą być dyskusyjne dlatego celem weryfikacji otrzymanych danych konieczne byłoby przeprowadzenie właściwych badań na większej populacji pacjentów.

Zastosowane kondycjonowanie przed allo-HSCT było zależne od czynników, takich jak: rozpoznanie, wiek pacjenta oraz występowanie chorób towarzyszących. Wszyscy pacjenci otrzymali G-CSF w celu szybszej odnowy hematologicznej po przeszczepieniu komórek hematopoetycznych.

Replikacja (infekcja) CMV była definiowana jako wykrycie wirusa CMV z wykorzystaniem metody DNA PCR >0 kopii/mL lub antygenemii pp65 w osoczu. Badania w kierunku replikacji CMV były wykonywane u biorców w rutynowych cotygodniowych kontrolach podczas hospitalizacji, jak również w trakcie leczenia ambulatoryjnego.

Do powikłań płucnych zaliczono zapalenie płuc, hipoksje z powodu CLS, nadciśnienie płucne, oraz zachłyśnięcie wydzieliną żołądkową.

Do powikłań sercowych zaliczono niewydolność krążenia, kardiomiopatię, tętniak zatoki Valsalvy, nadciśnienie tętnicze długotrwałe tj. nadciśnienie tętnicze występujące również po wypisie z oddziału przeszczepowego po procedurze allo-HSCT.

Do powikłań krwotocznych zaliczono: krwawienie do przewodu pokarmowego, krwawienie do dróg oddechowych, krwawienie do pęcherza moczowego, zmiany pokrwotoczne będące wynikiem mikroangiopatii polekowej w badaniu MR głowy.

Ocena nasilenia klinicznych objawów aGVHD została dokonana w zależności od nasilenia zajęcia skóry, jelit oraz wątroby na podstawie zmodyfikowanych kryteriów Glucksberga oraz skali według Międzynarodowego Rejestru Transplantacji Szpiku Kostnego, uwzględniając kryteria Jacobsohna stosowane u pacjentów pediatrycznych. Badanie histopatologiczne było wykonane w przypadku wątpliwości w rozpoznaniu ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. W leczeniu pierwszej linii GVHD stosowano metyloprednizolon w dawce 1-2mg/kg dobę w zależności od stopnia aGVHD. O wyleczeniu aGVHD świadczyło ustąpienie

objawów tej choroby we wszystkich narządach. Oporność na leczenie steroidami stwierdzono jeśli po 3-5 dniach terapii sterydowej pogorszył się stan kliniczny pacjenta lub jeśli po 7 dniach nie obserwowano odpowiedzi na terapię.

Analiza statystyczna została przeprowadzona przy pomocy programu STATISTICA wersja 13.0 (TIBCO Software Inc. 2017, STATISTICA, version 13, Dell, OK, USA).

Celem ustalenia wartości odcinających low/medium/high dla stężeń badanych potencjalnych biomarkerów wykorzystano technikę Data Mining należącą do kategorii drzew klasyfikacyjnych C&RT. W pracy D.M.Ponce et al. dotyczących stężeń ST2 u pacjentów z aGVHD, klasyfikację biomarkera jako low/high wykonywano w oparciu o wartość mediany jego stężenia w +28 dobie od HSCT[67]. Z tego względu w ramach prowadzonych badań jako zmienną jakościową do zbudowania modelu użyto wystąpienie choroby aGVHD, natomiast jako predyktor ilościowy użyto wartości stężeń wybranych potencjalnych biomarkerów w +28 dobie od HSCT. Takie podejście pozwoliło na uzyskanie wartości odcięcia, które umożliwiło sklasyfikowanie danego pomiaru stężenia jako low/medium/high, a uzyskane wartości progowe były lepiej dopasowane do zebranej próby, której liczebność była stosunkowo niska w porównaniu do innych artykułów o podobnej tematyce. Z tego względu użycie techniki Data Mining wydaje się być bardziej zasadne niż użycie wartości mediany jako wartości odcinającej low/high.

Badano związek między stężeniem ST2, REG α i sCD163 a zmiennymi jakościowymi. Wśród analizowanych przypadków przy grupowaniu na poszczególne zmienne jakościowe nominalne nie potwierdzono rozkładu normalnego wśród wartości poszczególnym markerów, wobec czego w przypadku zmiennych nominalnych dwustanowych celem sprawdzenia istotności statystycznej wykonano test Manna-Whitney'a z poprawką na ciągłość z powodu małej liczebności grup, zaś przy zmiennych innych niż dwustanowe test Kruskala-Wallisa.

W przypadku danych dotyczących stężenia markerów u pacjentów z rozpoznaniem aGVHD, po usunięciu odstających obserwacji, sprawdzono założenia testu T (normalność rozkładu testem Shapiro-Wilka oraz równości wariancji testem Levene'a) – dla prób spełniających wymienione założenia wykonano test T, dla pozostałych zmiennych wykonano test Manna-Whitney'a z poprawką na ciągłość z powodu małej liczebności grup. W przypadku niektórych zmiennych tj. rodzaj dawcy, rodzaj zastosowanego kondycjonowania, obecność wznowy, NRM, śmierć

związana z wznową, wystąpienia VOD, CLS, ostre zapalenie trzustki analiza nie była możliwa z powodu małej liczebności przypadków w podgrupach tj. poniżej 3 pacjentów.

4.3. WYNIKI

4.3.1. Charakterystyka chorych

Do badania włączono 70 pacjentów poddanych procedurze allogenicznego przeszczepienia komórek krwiotwórczych. Charakterystyka chorych została przedstawiona w Tabeli 4. W badanej kohorcie wszyscy pacjenci zostali objęci podobną opieką okołotransplantacyjną, przebywali w pojedynczych salach wyposażonych w odpowiednie filtry powietrza. Mediana wieku pacjentów w momencie allo-HSCT wynosiła 6,5 lat (zakres, 1-17,5 lat). Najczęstszym wskazaniem do przeszczepienia komórek hematopoetycznych była ostra białaczka limfoblastyczna (29,00%) oraz choroby metaboliczne (16,00%). Głównym źródłem komórek hematopoetycznych była krew obwodowa (71,43%). U wszystkich biorców i dawców komórek krwiotwórczych wykonano genotypowanie HLA o wysokiej rozdzielczości. Rodzeństwo zgodne w zakresie antygenów układu HLA (MSD) stanowiło 21,42% dawców, dawcy rodzinni lub dawcy niespokrewnieni zgodni w 10/10 lub 9/10 74,30% dawców (MD), częściowo niezgodni dawcy rodzinni lub niespokrewnieni 4,28% dawców (MMD). Zastosowane kondycjonowanie przed przeszczepieniem komórek hematopoetycznych było zależne od czynników takich jak: rozpoznanie, wiek pacjenta, rodzaj dawcy oraz występowanie chorób towarzyszących. W grupie badanej, 65 (92,86%) chorych otrzymało kondycjonowanie mieloablacyjne (MAC), a 5 (7,14%) pacjentów kondycjonowanie o zredukowanej intensywności (RIC). Jako element profilaktyki aGVHD przed allo-HSCT 58 (82,86%) pacjentów otrzymało ATG, w tym u 1 (1,72%) pacjenta zastosowano Tymoglobuline®, u 57 (98,28%) chorych zastosowano Grafalon®.

Pod względem serologicznego wyniku CMV dawcy i biorcy prezentowali się następująco: dawca i biorca dodatni (D+/B+) 37,10%, dawca i biorca ujemny (D-/B-) 17,10%, dawca dodatni a biorca ujemny (D+/B-) 20,00%, dawca ujemny a biorca dodatni (D-/B+) 25,80%.

Tabela 4. Charakterystyka pacjentów

Wiek [lata], mediana (zakres)		6,5 (1 – 17,5)
Płeć	Męska, liczba (%)	49 (70)
	Żeńska, liczba (%)	21 (30)
choroba podstawowa, liczba (%)	Ostra białaczka limfoblastyczna	20 (29)
	Choroba metaboliczna	11 (16)
	Ostra białaczka szpikowa	9 (13)
	Pierwotny niedobór odporności	9 (13)
	Niewydolność szpiku	8 (11)
	Chłoniak nieziarniczy	6 (9)
	Zespół mielodysplastyczny	5 (7)
	Przewlekła białaczka szpikowa	1 (1)
	Inne	1 (1)
Rodzaj dawcy, liczba (%)	Spokrewniony	19 (27,14)
	Niespokrewniony	51 (72,86)
Rodzaj dawcy, liczba (%)	MSD	15 (21,42)
	MD	52 (74,30)
	MMD	3 (4,28)
Źródło komórek hematopoetycznych, liczba (%)	Szpik kostny	20 (28,57)
	Krew obwodowa	50 (71,43)
Rodzaj kondycjonowania, liczba (%)	mieloablacyjne	65 (92,86)
	o zredukowanej intensywności	5 (7,14)
Płeć dawca/biorca, liczba (%)	Męska/męska	38 (54,29)
	Męska/żeńska	13 (18,57)
	Żeńska/męska	11 (15,71)
	Żeńska/żeńska	8 (11,43)
Status CMV, liczba (%)	Biorca(+)/dawca(+)	26 (37,1)
	Biorca(-)/dawca(+)	14 (20,00)

	Biorca(+)/dawca(-)	18 (25,70)
	Biorca(-)/dawca(-)	12 (17,10)
ATG, liczba (%)	Tak	58 (82,86)
	Nie	12 (17,14)
Profilaktyka GVHD, liczba (%)	CSA	12 (17,14)
	CSA/MTX	48 (68,58)
	CSA/MMF	5 (7,14)
	CSA/MTX/MMF	5 (7,14)
Druga procedura allo-HSCT, liczba (%)	Tak	6 (8,57)
	Nie	64 (91,43)
Ilość przetoczonych komórek CD34 ⁺ , mediana (zakres)		7,27x10 ⁶ (1,27x10 ⁶ – 22,41x10 ⁶)

4.3.2. OS, NRM, wznowa

Czas obserwacji od dnia wykonania procedury przeszczepienia komórek hematopoetycznych wynosił 7 miesięcy. Dziesięcioro (14,28%) pacjentów zmarło, z czego 6 chorych z powodu wznowy oraz 4 pacjentów z powodu NRM. Prawdopodobieństwo wystąpienia zgonu u osób poddanych procedurze allo-HSCT z powodu choroby nowotworowej wynosiło 16,27%, natomiast z powodu choroby nienowotworowej 11,11%. Mediana czasu przeżycia pomiędzy procedurą allo-HSCT, a zgonem wynosiła 151 dni (zakres, 44 – 215 dni). Siedmiomiesięczny NRM wyniósł 5,71%. Przyczynami NRM były głównie infekcje (sepsa u 2 pacjentów, infekcja SARS-CoV-2 u 1 dziecka), natomiast jeden pacjent zmarł z powodu zachłyśnięcia, które nastąpiło podczas wlewu preparatu płytek krwi u dziecka z istotnym upośledzeniem intelektualnym (MPS I).

Siedmiomiesięczne przeżycie końcowe (OS) wynosiło 90,6% i 92,8% odpowiednio u pacjentów z chorobą nowotworową i nienowotworową, różnica nie okazała się istotna statystycznie (p=0,574). Z przeżyciem końcowym nie były również związane takie czynniki jak rodzaj zastosowanego kondycjonowania (p=0,347), rodzaj dawcy komórek hematopoetycznych (p=0,596) czy wiek biorcy (p=0,676), wyniki te nie są istotne statystycznie.

W niniejszym badaniu nie stwierdzono wpływu na ryzyko wznowy takich czynników jak rodzaj dawcy (p=0,116) czy wiek biorcy (p=0,986), wyniki te nie są istotne statystycznie.

Nie stwierdzono istotnie statystycznego związku pomiędzy stężeniem ST2, REG3 α i sCD163, a przeżyciem całkowitym (OS).

Nie stwierdzono istotnego statycznie związku pomiędzy stężeniem ST2, REG3 α i sCD163 w dobie +7 oraz w dobie +28 po allo-HSCT a NRM. Dane zostały przedstawione w Tabeli 5.

Tabela 5. Istotność statystyczna związku pomiędzy stężeniem ST2, REG3 α i sCD163 a NRM

	NRM (p-value)
ST2 doba +7	0,397958
ST2 doba +28	0,728785
sCD163 doba +7	0,107179
sCD163 doba +28	0,972475
REG3 α doba +7	0,616834
REG3 α doba +28	0,482121

Badanie nie wykazało istotnego statycznie związku pomiędzy stężeniem ST2, REG3 α oraz sCD163 w dobie +7 i dobie +28 po allo-HSCT z wystąpieniem wznowy oraz śmiercią związaną ze wznową (Tabela 6).

Tabela 6. Istotność statystyczna związku pomiędzy stężeniem ST2, REG3 α i sCD163 ze wznową oraz śmiercią związaną ze wznową

	Wznowa (p-value)	Śmierć związana ze wznową (p-value)
ST2 doba +7	1,000000	0,359318
ST2 doba +28	0,222877	0,797728
sCD163 doba +7	0,676559	0,149697
sCD163 doba +28	0,141194	0,673217
REG3 α doba +7	0,084173	0,173563
REG3 α doba +28	0,141194	0,506429

Badanie nie wykazało związku pomiędzy stężeniem ST2, REG3 α oraz sCD163 w dobie +7 i dobie +28 po allo-HSCT a wystąpieniem zgonu (Tabela 7).

Tabela 7. Istotność statystyczna związku pomiędzy stężeniem ST2, REG3α i sCD163 z wystąpieniem zgonu

	Zgon (p-value)
ST2 doba +7	0,870769
ST2 doba +28	0,814669
sCD163 doba +7	1,000000
sCD163 doba +28	0,401725
REG3α doba +7	0,423062
REG3α doba +28	0,383615

4.3.3. Ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi

W przeciągu 215 dni po allo-HSCT, 40 (57,00%) chorych rozwinęło ostrą chorobę przeszczep przeciwko gospodarzowi. Mediana czasu rozpoznania aGVHD wyniosła 19 dni po allo-HSCT (zakres, 9-66 dni), a średnim dniem rozpoznania była doba +24 po allo-HSCT. Ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi stopnia I wystąpiła u 22 (55%) pacjentów, stopnia II u 15 (38%) pacjentów, stopnia III u 1 (2,50%) pacjenta, stopnia IV u 2 (5%) pacjentów. Spośród chorych u których zdiagnozowano aGVHD, u 7 (17,50%) pacjentów zdiagnozowano postać skórą aGVHD, u 4 (10%) pacjentów postać wątrobową aGVHD, u 7 (17,50%) pacjentów postać jelitową aGVHD. Postać serydooporna ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi wystąpiła u 7 (17,50%) pacjentów, u tych chorych zastosowano leczenie drugiej linii aGVHD. Przewlekłą postać choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi rozpoznano u 3 (4,29%) pacjentów.

W badanej kohorcie źródło komórek hematopoetycznych ($p=0,00841$; test χ^2 Pearsona) i fakt przeprowadzenia allo-HSCT po raz drugi ($p=0,03615$; test χ^2 Pearsona) wpłynęły na wystąpienie aGVHD. Badanie wykazało, że 67,35% pacjentów, którzy otrzymali komórki hematopoetyczne z krwi obwodowej rozwinęło aGVHD, podczas gdy w przypadku grupy pacjentów otrzymujących komórki hematopoetyczne ze szpiku na aGVHD zachorowało tylko 33,33% osób. Wykazano również, że 60,94% pacjentów, którzy przeszli pierwszy allo-HSCT zachorowało na aGVHD, w przypadku drugiego HSCT na aGVHD zachorowało 16,67%.

W niniejszym badaniu nie stwierdzono, aby na ryzyko rozwinięcia aGVHD miały wpływ takie czynniki jak choroba podstawowa ($p=0,831$), rodzaj zastosowanego kondycjonowania ($p=0,421$), rodzaj dawcy ($p=0,066$), wyniki te nie są istotne statystycznie. Jak również, nie wykazano, aby u biorców płci męskiej wystąpiło wyższe ryzyko wystąpienia aGVHD kiedy

dawcą jest kobieta (test chi²Pearsona p=0,36147, test dokładny Fishera p=0,63325). Nie wykazano także związku pomiędzy zastosowaniem ATG, MTX, CSA, MMF, a wystąpieniem aGVHD (p> 0,05).

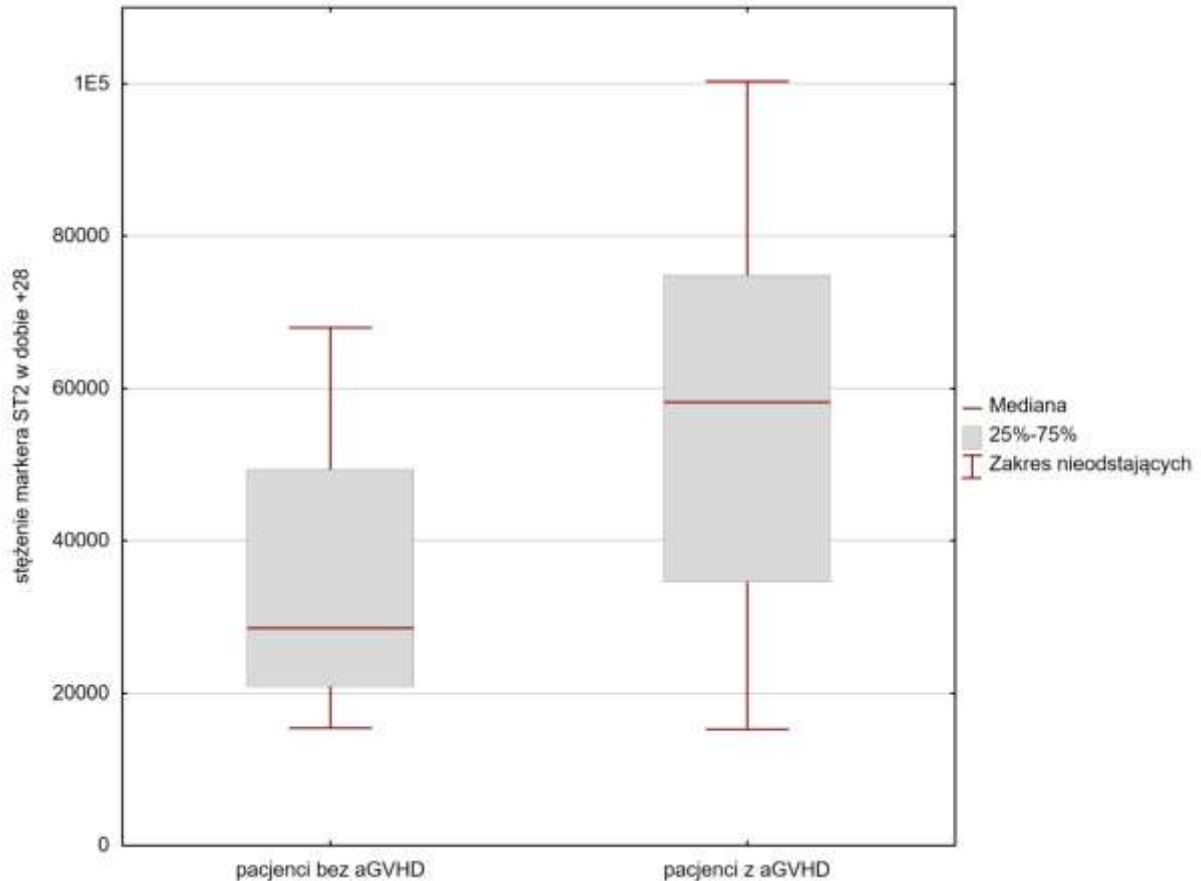
4.3.3.1. Analiza stężeń ST2, REG3α i sCD163 w całej kohorcie pacjentów

Analizę wyników stężeń ST2, REG3α i sCD163 w całej kohorcie pacjentów przedstawiono poniżej w Tabeli 8.

Tabela 8. Mediana stężeń ST2, REG3α i sCD163 w całej kohorcie pacjentów

	Wszyscy pacjenci	Pacjenci bez aGVHD	Pacjenci z aGVHD
ST2 doba +7 (pg/mL)	24563,15	22403,636	25555,556
REG3α doba +7 (ng/mL)	11,84	15,709	11,286
sCD163 doba +7 (ng/mL)	181,97	202,493	161,445
ST2 doba +28 (pg/mL)	44167,27	28543,864	58231,111
REG3α doba +28 (ng/mL)	12,58	10,530	13,414
sCD163 doba +28 (ng/mL)	238,20	230,352	238,195

Analiza wykazała, że stężenie ST2 w dobie +28 po allo-HSCT jest wyższe wśród pacjentów z aGVHD niż u pacjentów nie chorujących na to powikłanie poprzyszczepowe, wynik ten jest istotny statystycznie (p=0,005224), co zostało zilustrowane na Rycinie 1. Nie wykazano istotnego statystycznie związku stężenia ST2 w dobie +7 po allo-HSCT z wystąpieniem aGVHD.



Rycina 1. Stężenia ST2 w dobie +28 po allo-HSCT u pacjentów chorujących na aGVHD oraz pacjentów nie chorujących na aGVHD (pg/mL)

Badanie nie wykazało istotnego statystycznie związku stężenia REG3α i sCD163 w dobach +7 oraz +28 po allo-HSCT z wystąpieniem aGVHD.

Wykazano, że stężenie ST2 w dobie +28 jest istotnie statystycznie wyższe wśród pacjentów ze sterydooporną postacią aGVHD niż u chorych z postacią sterydowrażliwą aGVHD ($p=0,0237$). Natomiast, badanie nie wykazało związku pomiędzy stężeniami ST2 w dobie +7 po allo-HSCT oraz REG3α i sCD163 w dobach +7 oraz +28 po allo-HSCT z wystąpieniem sterydoopornej postaci aGVHD. Korelacja między stężeniami ST2, REG3α, sCD163 z wystąpieniem aGVHD oraz postaci sterydoopornej aGVHD została przedstawiona w Tabeli 9.

Tabela 9. Istotność statystyczna związku między stężeniami ST2, REG3α, sCD163 z wystąpieniem aGVHD oraz sterydoopornej postaci aGVHD

	aGVHD	sterydooporna postać aGVHD
ST2 doba +7	0,611533	0,346974
ST2 doba +28	0,005224	0,023696
REG3α doba +7	0,579540	0,660749
REG3α doba +28	0,173852	0,733159
sCD163 doba +7	0,516429	0,888323
sCD163 doba +28	0,680231	0,073935

Co więcej, u pacjentów z aGVHD w stopniu I-II ($p=0,0353$), a także w stopniu III-IV ($p=0,0376$) stwierdzono statystycznie znamienne wyższe stężenia ST2 niż w grupie pacjentów bez GVHD.

Stężenie REG3α w dobie +28 po allo-HSCT pozwala na rozróżnienie między brakiem aGVHD, a rozpoznaniem aGVHD w stopniu III-IV ($p=0,0458$).

Pozostałe analizowane białka w badanych punktach czasowych nie wykazały istotności statystycznej z wystąpieniem aGVHD oraz sterydoopornej postaci aGVHD.

4.3.3.2. Analiza stężeń ST2, REG3 α i sCD163 u pacjentów z rozpoznaniem aGVHD

W metodyce niniejszej pracy zwrócono wagę na małą grupę pacjentów, co może mieć wpływ na istotność wyników przedstawianych w tym podrozdziale.

Mediana stężeń ST2, REG3 α i sCD163 u pacjentów z rozpoznaniem aGVHD została przedstawiona w Tabeli 10.

Tabela 10. Mediana stężeń ST2, REG3 α i sCD163 w badanych punktach czasowych

	aGVHD ogółem	Sterydowrażliwa postać aGVHD	Sterydooporna postać aGVHD
ST2 doba +7 (pg/mL)	25555,56	25432,727	31020,970
REG3 α doba +7 (ng/mL)	11,29	11,286	13,240
sCD163 doba +7 (ng/mL)	161,45	161,445	144,340
ST2 doba +28 (pg/mL)	58231,11	48928,750	70287,270
REG3 α doba +28 (ng/mL)	13,41	13,595	12,820
sCD163 doba +28 (ng/mL)	238,20	311,532	148,490
ST2 doba +1 aGVHD (pg/mL)	43654,49	35005,556	57917,500
REG3 α doba +1 aGVHD (ng/mL)	12,82	14,460	11,840
sCD163 doba +1 aGVHD (ng/mL)	274,28	285,171	148,490
ST2 doba +7 aGVHD (pg/mL)	68167,73	68114,545	68220,910
REG3 α doba +7 aGVHD (ng/mL)	14,90	15,308	14,380
sCD163 doba +7 aGVHD (ng/mL)	339,54	326,494	346,430

Analizę stężeń ST2, REG3 α i sCD163 u pacjentów z rozpoznaniem aGVHD porównującą różnice statystyczne między różnymi grupami przedstawiono w Tabeli 11.

Tabela 11. Analiza stężeń ST2, REG3α, sCD163 w odniesieniu do czynników mogących mieć związek z aGVHD u chorych z rozpoznanym aGVHD w dobach +7 oraz +28 po allo-HSCT

	Choroba nowotworowa vs. choroba nienowotworowa (p-value)	Status CMV dawcy (p-value)	Status CMV biorcy (p-value)	Zespół przeziąkania śródbłonnków (p-value)
ST2 doba +7	0,167857	0,031642	0,131319	0,336753
ST2 doba +28	0,236246	0,909575	0,372193	0,927107
REG3α doba +7	0,871093	0,534681	0,045942	0,119838
REG3α doba +28	0,236246	0,022154	0,935343	0,028117
sCD163 doba +7	0,049606	0,632959	0,167830	0,890843
sCD163 doba +28	0,987054	0,559128	0,269867	0,035352

Stężenie sCD163 w dobie +7 było istotnie statystycznie niższe wśród pacjentów, którzy rozwinęli aGVHD z chorobą nowotworową niż u pacjentów z chorobą nienowotworową poddanych procedurze allo-HSCT (mediana 138,80 ng/mL vs. 208,43 ng/mL; p= 0,049606).

Stężenie ST2 w dobie +7 oraz REG3α w dobie +28 są istotnie statystycznie niższe u pacjentów z rozpoznaną aGVHD, którzy otrzymali materiał przeszczepowy od CMV dodatnich dawców niż od dawców CMV ujemnych (kolejno: dla ST2 +7 mediana 22684,62 pg/mL vs. 35134,09 pg/mL, p= 0,031642; dla REG3α +28 mediana 11,31 ng/mL vs. 19,42 ng/mL, p= 0,022154).

Stężenie REG3α w dobie +7 jest istotnie statystycznie wyższe u pacjentów z rozpoznaną aGVHD i CMV seropozytywnych niż u pacjentów CMV seronegatywnych (mediana 6,53 ng/mL vs. 14,77 ng/mL; p= 0,045942).

Stężenie REG3α w dobie +28 oraz sCD163 w dobie +28 u pacjentów z rozpoznaną aGVHD jest istotnie statystycznie wyższe u pacjentów z CLS niż pacjentów bez CLS (kolejno: dla REG3α mediana 56,15 ng/mL vs. 12,78 ng/mL, p= 0,028117; dla sCD163 mediana 679,68 ng/mL vs. 203,41 ng/mL, p= 0,035352).

Pozostałe czynniki, takie jak: płeć dawcy i biorecy, rodzaj dawcy, źródło komórek krwiotwórczych, wznowa, zgon, VOD, stosowanie ATG, MTX, CSA/MTX, MMF nie wpłynęły statystycznie istotnie na stężenia ST2, REG3 α , sCD163 u pacjentów z rozpoznaniem aGVHD.

Poniżej, w Tabeli 12 przedstawiono analizę stężeń ST2, REG3 α i sCD163 w dobie +1 aGVHD oraz +7 leczenia aGVHD, w odniesieniu do czynników związanych z aGVHD oraz innych powikłań po allo-HSCT, porównująca różnice statystyczne między różnymi grupami.

Tabela 12. Analiza związku między czynnikami związanymi z aGVHD oraz powikłaniami po allo-HSCT a stężeniami ST2, REG3 α , sCD163 w +1 oraz +7 dobie aGVHD

	Choroba nowotworowa vs. choroba nienowotworowa (p-value)	Status CMV dawcy (p-value)	Status CMV biorecy (p-value)	Powikłania pulmonologiczne (p-value)
ST2 doba +1 aGVHD	0,026501	0,969229	0,526118	1,000000
ST2 doba +7 aGVHD	0,782880	0,633343	0,342531	0,064585
REG3 α doba +1 aGVHD	0,895333	0,049655	0,047022	0,038607
REG3 α doba+7 aGVHD	0,148838	0,336447	0,479149	0,972902
sCD163 doba +1 aGVHD	0,686790	0,678755	0,937662	0,993924
sCD163 doba +7 aGVHD	0,582029	0,081693	0,890723	0,921478

Badanie wykazało, że stężenie ST2 w dobie +1 aGVHD było istotnie wyższe w przypadku choroby nowotworowej niż choroby nienowotworowej (63160,83 pg/mL vs. 34058,57 pg/mL; p=0,026501). Natomiast, na stężenia REG3 α wpłynęły status CMV biorecy, status CMV dawcy oraz powikłania pulmonologiczne. Stężenie REG3 α w dobie +1 aGVHD było wyższe w przypadku: dawcy CMV seronegatywnego niż seropozytywnego (21,47 ng/mL vs. 12,82

ng/mL; p=0, 0,049655), biorcy CMV seropozytywnego niż seronegatywnego (15,63 ng/mL vs. 7,19 ng/mL; p=0,047022), jak również w przypadku braku wystąpienia powikłań pulmonologicznych w porównaniu z grupą chorych z powikłaniami pulmonologicznymi (14,46 ng/mL vs. 5,82 ng/mL; p=0,038607).

Analizę związku stężenia ST2, REG3 α , sCD163 z wystąpieniem sterydoopornej postaci aGVHD w kohorcie pacjentów z aGVHD przedstawiono w Tabeli 13:

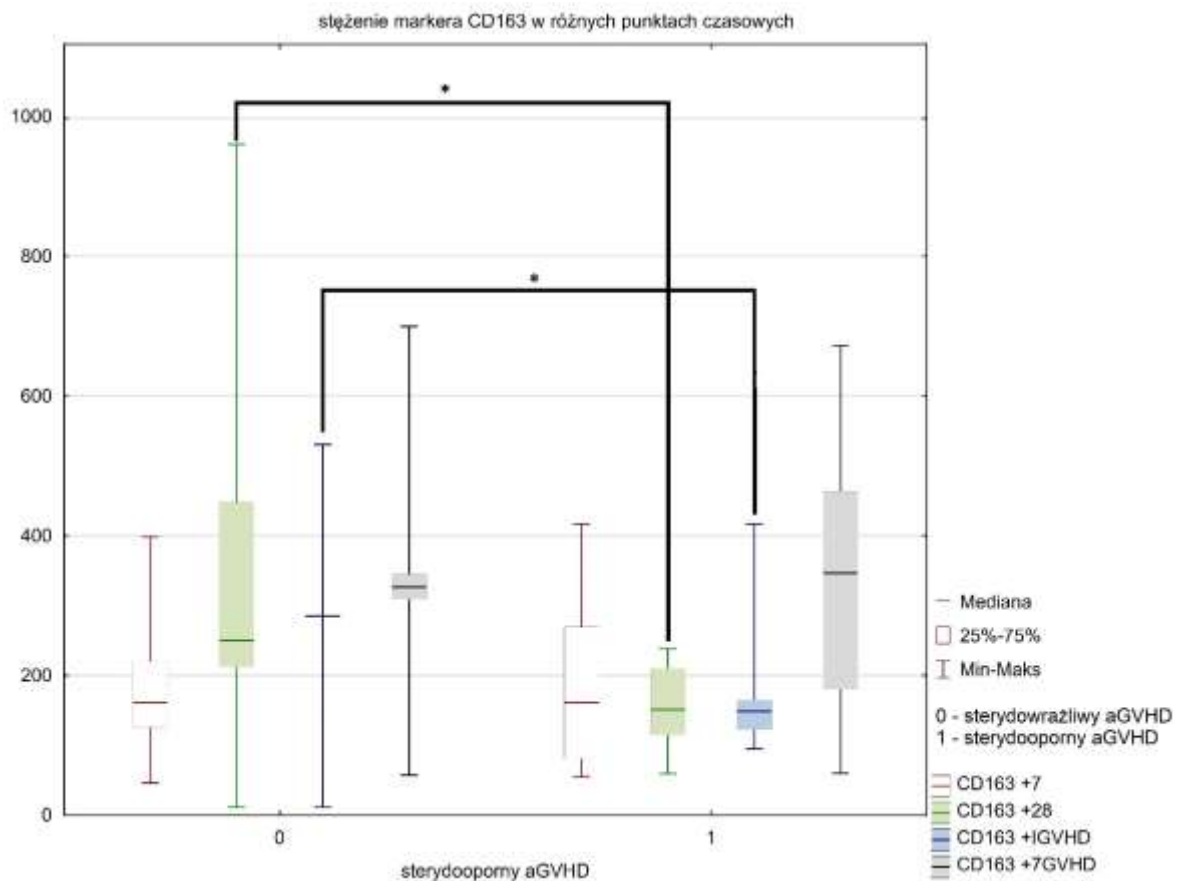
Tabela 13. Istotność statystyczna związku między stężeniami ST2, REG3 α , sCD163 z wystąpieniem sterydoopornej postaci aGVHD

	Sterydooporna postać aGVHD (p-value)
ST2 doba +7	0,718246
ST2 doba +28	0,041779
REG3 α doba +7	0,625401
REG3 α doba +28	0,607470
sCD163 doba +7	0,983066
sCD163 doba +28	0,039891
ST2 doba +1 aGVHD	0,484991
ST2 doba +7 aGVHD	0,445984
REG3 α doba +1 aGVHD	0,963078
REG3 α doba +7 aGVHD	0,679178
sCD163 doba +1 aGVHD	0,003207
sCD163 doba +7 aGVHD	0,959592

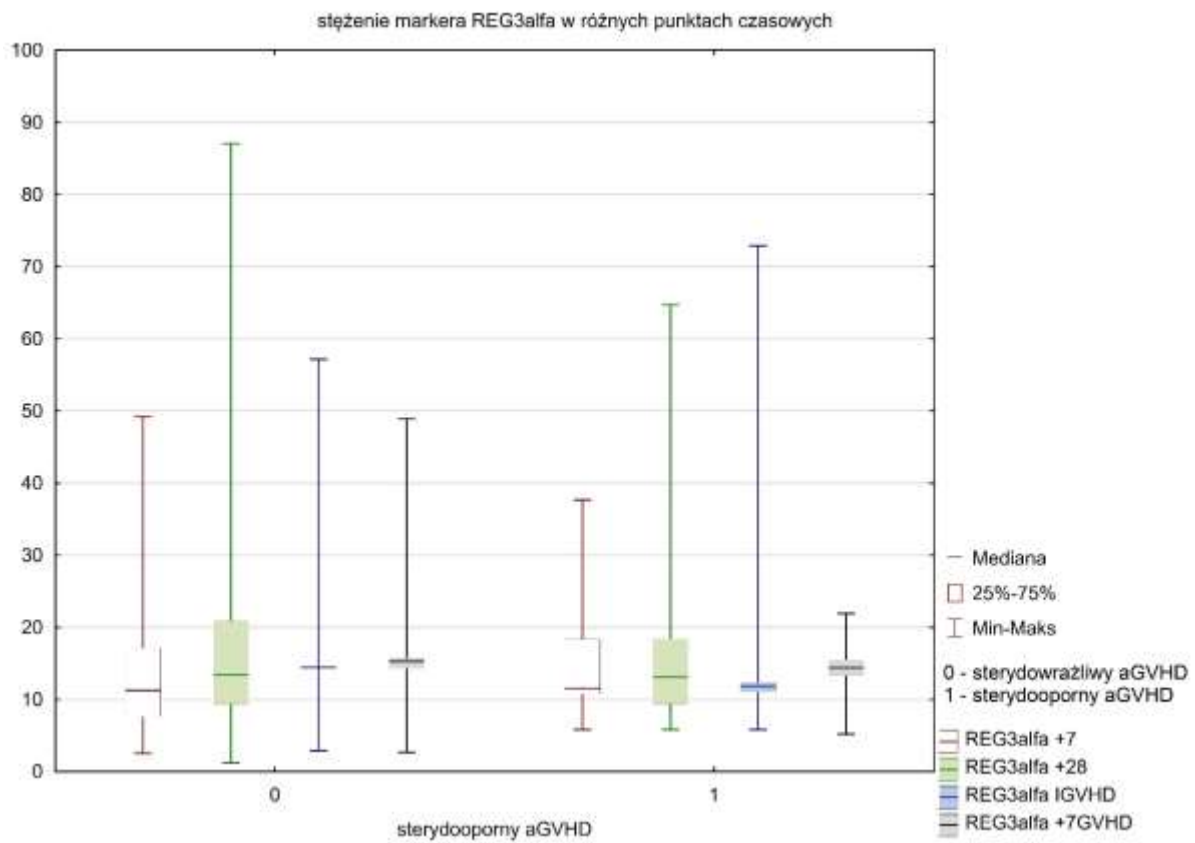
Stężenie ST2 w dobie +28 było istotnie statystycznie wyższe u pacjentów ze sterydooporną postacią aGVHD niż postacią sterydowrażliwą aGVHD (mediana 74290,86 pg/mL vs. 48928,75 pg/mL; p= 0,041779)

Stężenie sCD163 w dobie +28 było istotnie statystycznie niższe u pacjentów ze sterydooporną postacią aGVHD niż postacią sterydowrażliwą aGVHD (mediana 141,19 ng/mL vs. 289,83 ng/mL; $p=0,039891$). W dobie +1 stężenie sCD163 było również istotnie statystycznie niższe u pacjentów ze sterydooporną postacią aGVHD (mediana 122,03 ng/mL vs. 285,17 ng/mL; $p=0,003207$).

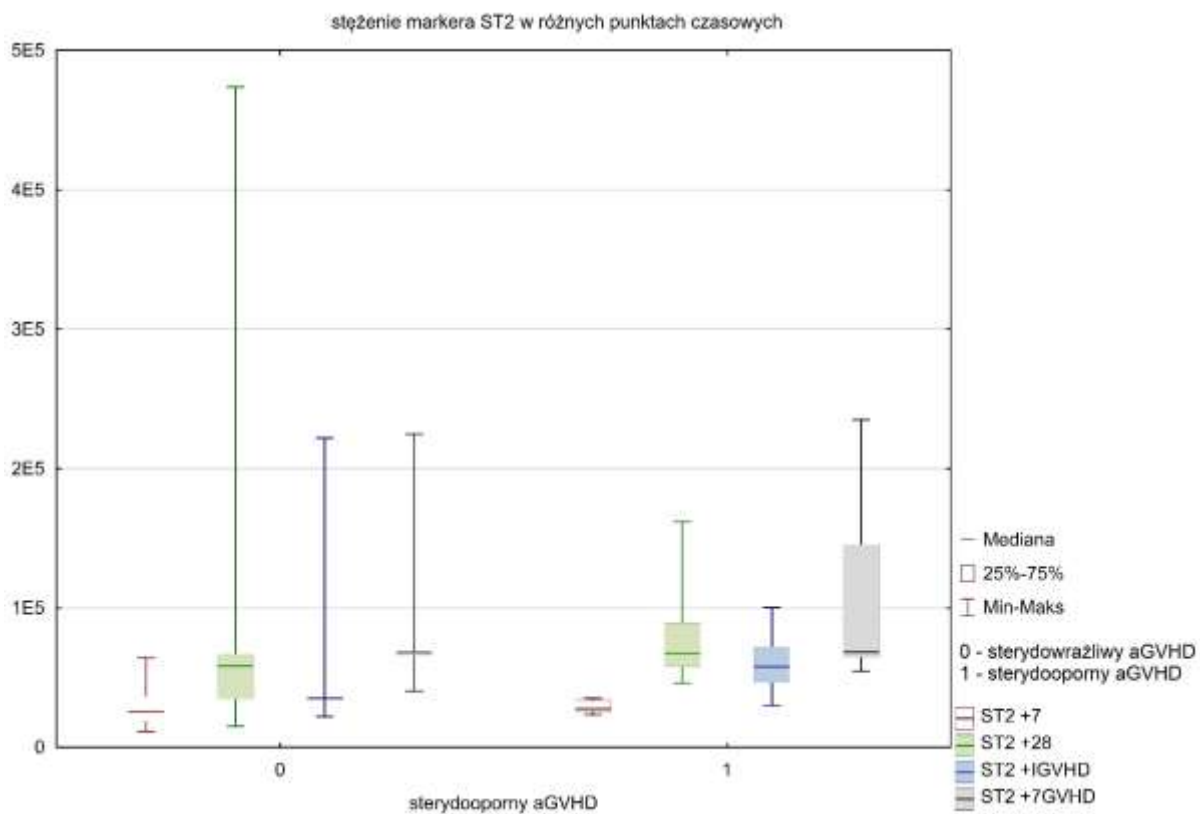
Poniżej przedstawiono wykresy obrazujące obserwowane wartości w populacji aGVHD z podziałem na aGVHD postać sterydooporną (1) i wrażliwą (0) dla sCD163, REG3 α , ST2 (kolejno: Rycina 2, Rycina 3, Rycina 4).



Rycina 2. Stężenie sCD163 w populacji aGVHD z podziałem na aGVHD postać sterydooporną (1) i sterydowrażliwą (0)



Rycina 3. Stężenie REG3 α w populacji aGVHD z podziałem na aGVHD postać sterydooporną(1) i sterydowrażliwą (0)



Rycina 4. Stężenie ST2 w populacji aGVHD z podziałem na aGVHD postać sterydooporną(1) i sterydowrażliwą (0)

W oparciu o uzyskane wyniki przesiewowych testów statystycznych (jak wyżej) wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy grupami pacjentów z aGVHD postacią sterydooporną i sterydowrażliwą w przypadku stężeń: ST2 w dobie +28 ($p=0,041779$), sCD163 w dobie +28 ($p=0,039891$), sCD163 w dobie +1 aGVHD ($p=0,003207$). W badanej kohorcie 40 pacjentów zachorowało na aGVHD, z czego u 8 pacjentów rozwinęła się sterydooporna postać aGVHD. Wobec tego podjęto próbę zbudowania modelu regresji logistycznej, który w oparciu o stężenia wybranych potencjalnych markerów w odpowiednich punktach czasowych przewidywałby szansę rozwoju sterydoopornego aGVHD wśród pacjentów chorujących na aGVHD - przeprowadzono na początku analizę jednoczynnikową, do kolejnego kroku analizy włączono tylko te zmienne, dla których wartość p (LR) była $\leq 0,200$. W kolejnym kroku oceniono współliniowość predyktorów: dla zmiennej ST2 w dobie +7 aGVHD wartość testu wyniosła $p < 0,05$ dlatego wyeliminowano ją z analizy. Ponadto wykazano współliniowość zmiennej ST2 w dobie +28 oraz sCD163 w dobie +28 dlatego zmienną sCD163 dobie +28 wyeliminowano z analizy. W ramach walidacji modelu dokonano losowego przydziału przypadków do próby uczącej i testowej w oparciu o wprowadzoną dodatkową zmienną „Walidacja” z oceną krzyżową: stosunek liczby przypadków w próbie uczącej do próby testowej wynosił 7:3. W kolejnym kroku dokonano budowy modelu metodą wszystkich efektów – drogą eliminacji poszczególnych zmiennych wykazujących $p > 0,05$ udało się uzyskać model, który przyjął postać modelu jednoczynnikowego zawierającego zmienną sCD163 + 1 doba aGVHD. W trakcie budowania modelu zmienne ST2 +28 oraz sCD163 +28 okazały się być nieistotne statystycznie ($p > 0,05$) wobec czego nie włączono ich do modelu.

Tabela 14. Sterydooporna postać aGVHD - ocena parametrów jednoczynnikowego modelu regresji logistycznej

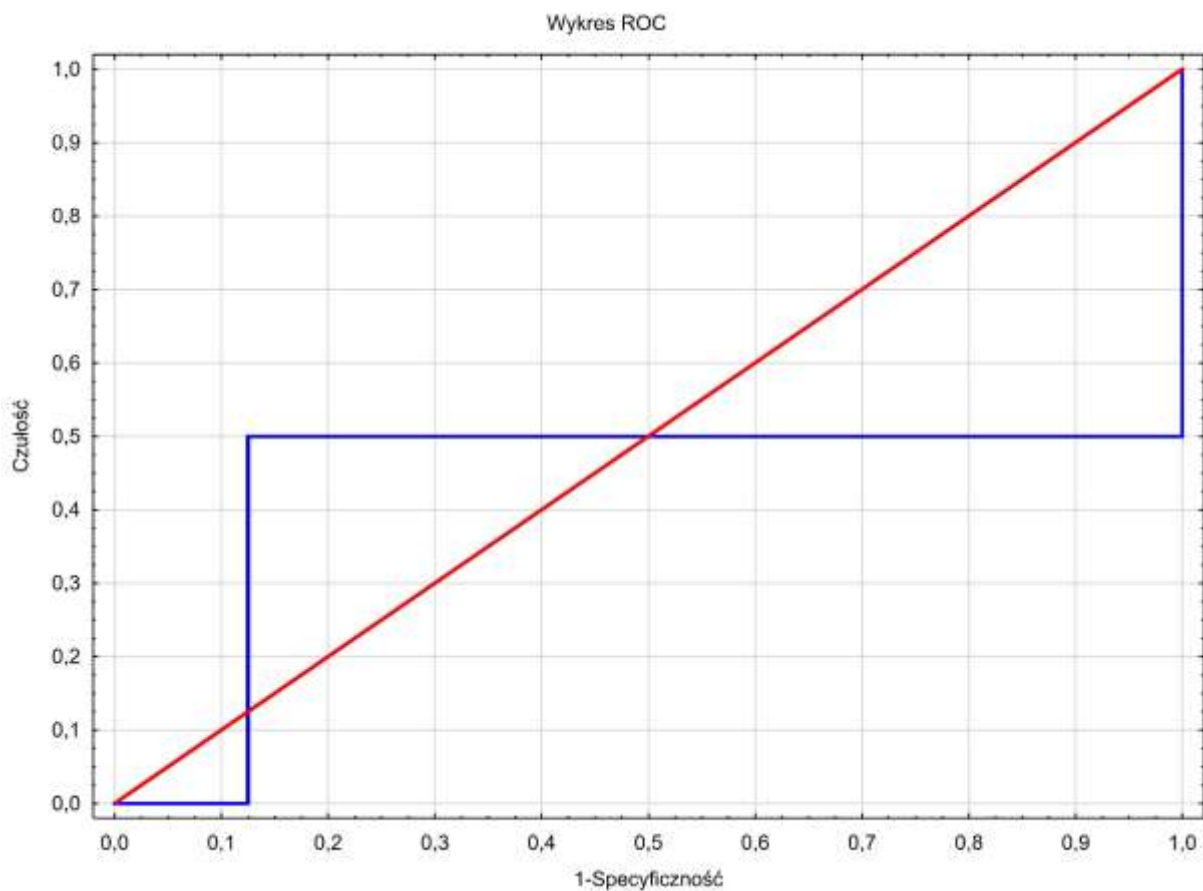
	P	Iloraz szans	Ufność OR -95%	Ufność OR 95%
Wyraz wolny	0,018	179,581	2,434	13247,664
sCD163 +1 aGVHD	0,008	0,969	0,946	0,992

W badaniu zaobserwowano, że wzrost sCD163 w dobie +1 aGVHD o jedną jednostkę powoduje spadek szansy rozwoju sterydoopornej postaci aGVHD o 3,10%. Spadek stężenia sCD163 w dobie +1 GVHD o 10 jednostek powoduje wzrost o szansy rozwoju sterydoopornej postaci aGVHD o 27,98% (Tabela 14). Zgodnie z definicją, wzór zbudowanej funkcji regresji logistycznej przyjmuje następującą postać:

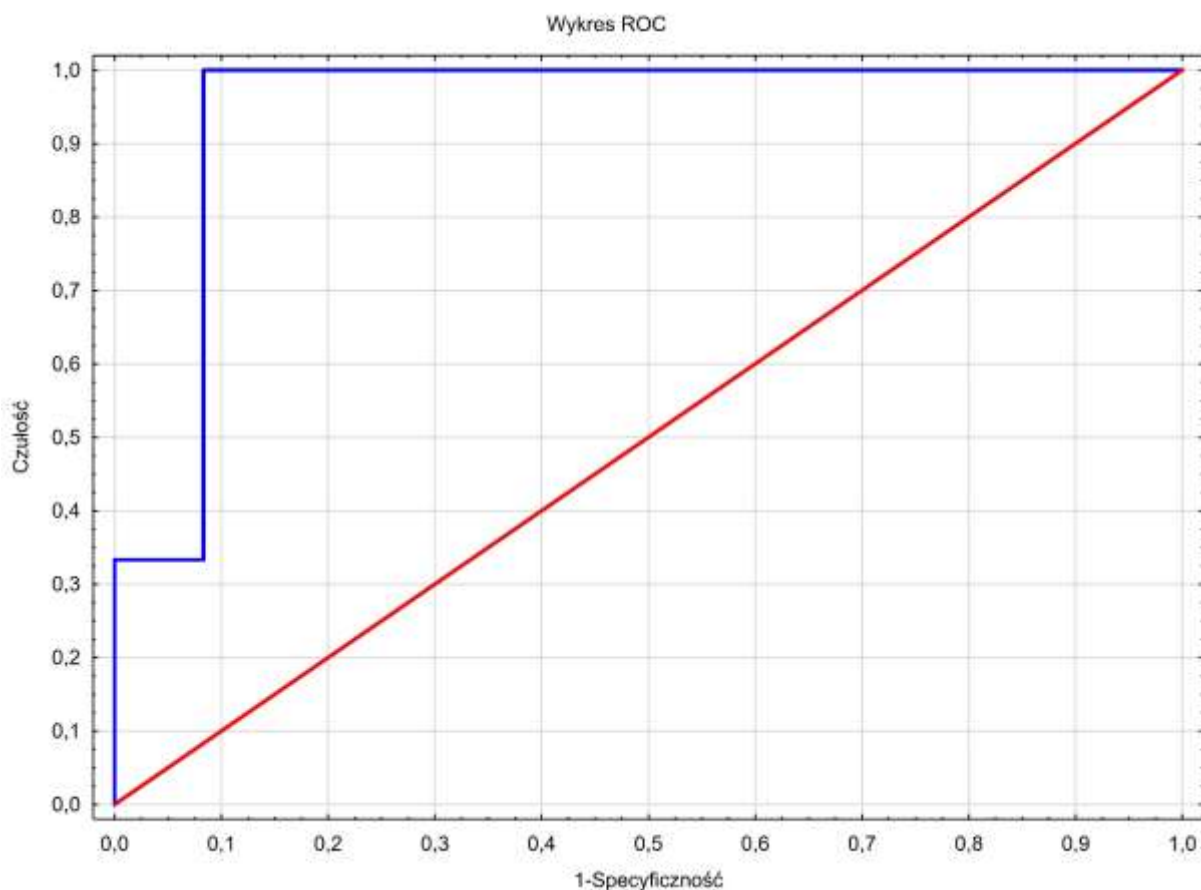
$$P(x) = \frac{e^{5,191-0,032*[CD163\ IG\ VHD]}}{1 + e^{5,191-0,032*[CD163\ IG\ VHD]}}$$

gdzie $P(x)$ przyjmuje wartość od (0;1) i oznacza prawdopodobieństwo wystąpienia aGVHD sterydoopornego wśród pacjentów, u których zdiagnozowano aGVHD.

Dobroć dopasowania modelu: test Homera-Lemeshowa dla próby uczącej $p=0,07$, dla próby testowej $p=0,00001$. Krzywa ROC: AUC dla próby uczącej 0,944, AUC dla próby testowej 0,438. Zbudowany model charakteryzuje się niską dobrocią dopasowania, co najprawdopodobniej związane jest z niską liczebnością próby (Rycina 4 i Rycina 5).

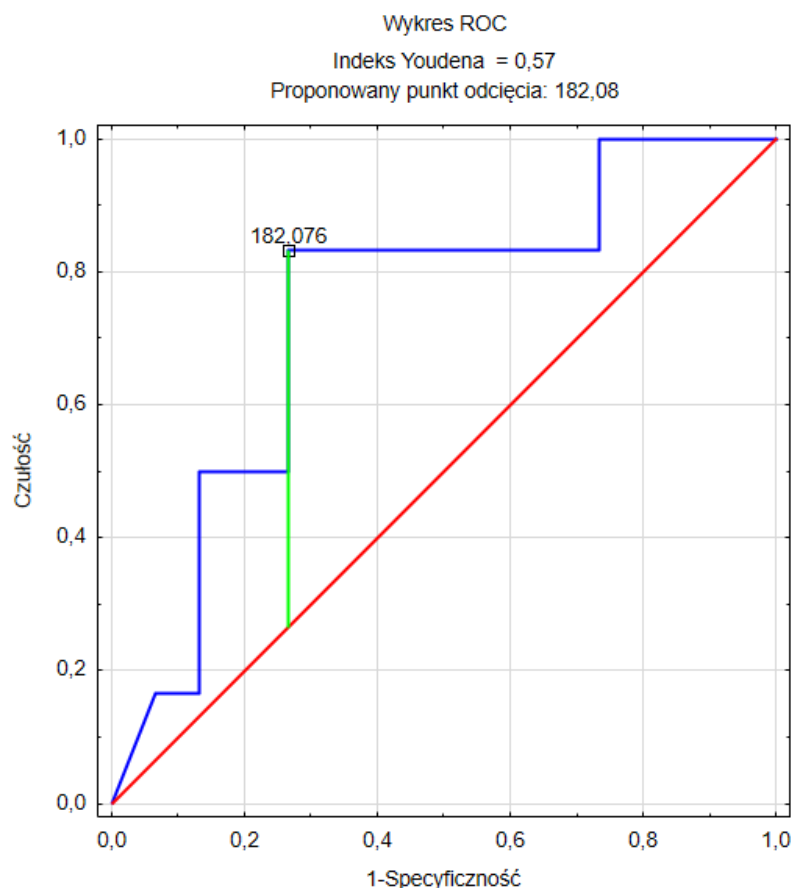


Rycina 5. Krzywa ROC - próba testowa (AUC 0,438)



Rycina 6. Krzywa ROC - próba ucząca (AUC=0,944)

Korzystając z krzywych ROC i indeksu Youdena wyliczono wartość progową stężenia markera sCD163 +1 aGVHD tj. 182,08 ng/mL (Rycina 6). Wobec tego pacjenci, którzy mieliby stężenie sCD163 w dobie +1 aGVHD niższe niż 182,08 ng/mL mieliby statystycznie istotną większą szansę na rozwinięcie sterydoopornego aGVHD niż pacjenci, którzy mieliby stężenie wyższe niż 182,08 ng/mL.



Rycina 7. Proponowana wartość progowa stężenia sCD163 w dobie +1 aGVHD dzieląca pacjentów na sterydoopornych i sterydowrażliwych.

Podjęto próbę zamiany zmiennych ilościowych na jakościowe dzięki wykorzystaniu narzędzia Data Mining oraz techniki drzew C&RT określono wartości graniczne pozwalające na przekodowanie zmiennych na 3 wartości: low, medium, high jak podano w Tabeli 15:

Tabela 15. Stężenia ST2, REG3 α , sCD163 w trzech kategoriach (low, medium, high)

	Low	Medium	High
ST2 (pg/mL)	$\leq 45905,1515$	$\leq 76548,3333$	$>76548,3333$
REG3 alfa (ng/mL)	$\leq 12,3842$	$\leq 19,4229$	$>19,4229$
sCD163 (ng/mL)	$\leq 190,4511$	$\leq 400,4969$	$> 400,4969$

Niestety, pomimo wielokrotnych prób, nie udało się zbudować modelu regresji logistycznej ani regresji liniowej pozwalających na wykorzystanie przekodowanych wartości zmiennych. Analiza proporcjonalnego hazardu Coxa dla żadnej z wymienionych zmiennych nie okazała się być istotna statystycznie tj. nie pozwalała potwierdzić, że stężenia badanych potencjalnych

biomarkerów mają związek z przeżywalnością pacjentów. Podobne wnioski uzyskano w przypadku analizy przeżywalności metodą Kaplana-Meiera. W tym przypadku jedynie dla zmiennej ST w dobie +28 po przekształceniu na wartości low, medium i high uzyskano graniczne $p=0,08$. Także w tym przypadku pomimo prób przekształcenia zmiennej 3-stanowej (low, medium, high) na zmienną dwustanową (low, high) nie udało się uzyskać niższej wartości p dla żadnej zmiennej.

Przekodowano parametry potencjalnych biomarkerów na 3 kategorie: low, medium i high, przy pomocy testu χ^2 sprawdzono, czy w obrębie pacjentów z aGVHD stężenia wybranych biomarkerów są różne pomiędzy grupami pacjentów z aGVHD wrażliwym i opornym na GKS. Wykazano, że po przekodowaniu stężenia ST2, REG3 α i sCD163 w momencie rozpoznania aGVHD są istotnie statystycznie różne między pacjentami z aGVHD wrażliwym i opornym na GKS (odpowiednio $p=0,01480$; $p=0,00649$ oraz $p=0,00002$). Dodatkowo, stężenia ST2 i sCD163 w dobie +28 również były istotnie statystycznie różne pomiędzy pacjentami z aGVHD wrażliwym i opornym na GKS (odpowiednio $p=0,04208$ oraz $p=0,01241$). Wyniki te zostały przedstawione w Tabeli 16. W przypadku przekodowania zmiennych na 2 kategorie (low, high) stężenie ST2 w dobie +28 okazało się być nieistotnie statystycznie, jednak w przypadku pozostałych markerów wartości p są niższe niż w przypadku markerów przekodowanych na 3 kategorie.

Tabela 16. Różnice stężeń markerów po ich przekodowaniu (low, medium, high) w przypadku sterydowrażliwej oraz sterydoopornej postaci aGVHD

	Postać aGVHD wrażliwa na GKS			Sterydooporna postać aGVHD			p-value
	low	medium	high	low	medium	high	
ST2 +7	0,844	0,156	0,000	1,000	0,000	0,000	0,23200
REG3alfa +7	0,688	0,125	0,188	0,625	0,125	0,250	0,92218
CD163 +7	0,719	0,281	0,000	0,750	0,125	0,125	0,09859
ST2 +28	0,438	0,313	0,250	0,125	0,375	0,500	0,04208
REG3alfa +28	0,375	0,344	0,281	0,250	0,625	0,125	0,33683
CD163 +28	0,219	0,469	0,313	0,750	0,250	0,000	0,01241
ST2 +1 aGVHD	0,781	0,125	0,094	0,250	0,500	0,250	0,01480
REG3alfa +1 aGVHD	0,188	0,656	0,156	0,750	0,125	0,125	0,00649
CD163 +1 aGVHD	0,094	0,813	0,094	0,875	0,000	0,125	0,00002
ST2 +7 aGVHD	0,063	0,750	0,188	0,000	0,625	0,375	0,44089
REG3alfa +7 aGVHD	0,188	0,656	0,156	0,125	0,750	0,125	0,87465
CD163 +7 aGVHD	0,156	0,688	0,156	0,250	0,375	0,375	0,24019

4.3.4. Status CMV

Nie uzyskano różnicy istotnej statystycznie pomiędzy biorcami CMV dodatnimi oraz CMV ujemnymi, którzy rozwinęli aGVHD ($p=0,6237$), jak również pomiędzy seronegatywnymi pacjentami, którzy otrzymali komórki hematopoetyczne od seronegatywnych biorców a pozostałymi pacjentami, którzy rozwinęli aGVHD ($p=1,00$). Najmniejszy odsetek wystąpienia aGVHD wystąpił u biorców CMV seropozytywnych, którzy otrzymali komórki hematopoetyczne od CMV seronegatywnych dawców (50%). Informacje dotyczące korelacji stężeń ST2, REG3 α , sCD163 z serostanem CMV dawcy i biorcy znajdują się powyżej w podrozdziale 4.3.2. „Ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi”.

4.3.5. Inne powikłania przeszczepowe

Korelacja między stężeniami ST2, REG3 α , sCD163 z wystąpieniem powikłań po allo-HSCT została przedstawiona w Tabeli 17.

Tabela 17. Istotność statystyczna związku między stężeniami ST2, REG3 α , sCD163 z wystąpieniem powikłań po allo-HSCT

	VOD (p-value)	CLS (p-value)	Powikłania Krwotoczne (p-value)
ST2 doba +7	0,078757	0,214641	0,063124
ST2 doba +28	0,032637	0,422033	0,030059
REG3 α doba +7	0,870281	0,986236	0,219124
REG3 α doba +28	0,192635	0,013365	0,139278
sCD163 doba +7	0,405907	0,933763	0,166240
sCD163 doba +28	0,454737	0,056896	0,667893

W niniejszym badaniu nie stwierdzono, aby na ryzyko rozwinięcia VOD miały wpływ takie czynniki jak choroba podstawowa ($p=0,249$), rodzaj zastosowanego kondycjonowania ($p=0,477$), rodzaj dawcy ($p=0,701$) czy wiek biorecy ($p=0,064$), gdyż wyniki te nie są istotne statystycznie. Analiza wykazała, że u pacjentów z VOD stężenie ST2 w dobie +28 było istotnie statystycznie wyższe od stężenia tego białka u pacjentów bez VOD (mediana 70807,69 pg/mL vs. 43259,00 pg/mL; $p=0,032637$), nie miało natomiast znaczenia w dobie +7 po allo-HSCT. Nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniami REG3 α oraz sCD163 z wystąpieniem VOD.

W całej kohorcie u 5 (7,14%) pacjentów wystąpił CLS. Wykazano, że u pacjentów z CLS występowało istotnie statystycznie wyższe stężenie REG3 α w dobie +28 niż u pacjentów, u których nie wystąpił CLS (mediana 56,15 ng/mL vs. 11,53 ng/mL; $p=0,013365$). Nie obserwowano jednak istotnie statystycznie korelacji pomiędzy CLS ze stężeniem ST2, sCD163 oraz REG3 α w pozostałych punktach czasowych.

Spośród wszystkich pacjentów u 8 (11,42%) chorych wystąpiły powikłania krwotoczne. W badaniu wykazano, że stężenie ST2 w dobie +28 było istotnie statystycznie wyższe u pacjentów, u których wystąpiły powikłania krwotoczne niż u pacjentów, u których powikłania

krwotoczne nie wystąpiły (mediana 78294,44 pg/mL vs. 40571,42 pg/mL; $p=0.030059$). Nie wykazano natomiast związku pomiędzy wysokimi stężeniami REG3 α oraz sCD163 z powikłaniami krwotocznymi.

W badanej kohorcie 7 (10%) pacjentów poddanych procedurze allo-HSCT miało powikłania płucne: zapalenie płuc (3/70), hipoksje z powodu CLS (2/70), nadciśnienie płucne (1/70), oraz zachłyśnięcie wydzieliną żołądkową (1/70). Nie wykazano, aby stężenia ST2, REG3 α i sCD163 miały związek z wystąpieniem powikłań pulmonologicznych.

W badanej kohorcie 5 (7.14%) pacjentów poddanych procedurze allo-HSCT miało powikłania kardiologiczne: niewydolność krążenia (3/70), kardiomiopatię (1/70), tętniak zatoki Valsalvy (1/70), nadciśnienie (1/70). Nie wykazano, aby stężenia ST2, REG3 α i sCD163 miały związek z wystąpieniem powikłań kardiologicznych.

4.3.6. Korelacja stężeń ST2, REG3 α i sCD163 ze zmiennymi jakościowymi

W pracy analizowano korelację stężeń ST2, REG3 α i sCD163 z czynnikami zmiennymi. Wykazano, że płeć biorcy wpływa na stężenie ST2 w dobie +7, stężenie to było bowiem wyższe w przypadku kiedy biorcą była kobieta niż mężczyzna (mediana 34772,86 pg/mL vs. 22960,15 pg/mL; $p=0.009868$). Natomiast, płeć dawcy nie ma znaczenia istotnego statystycznie dla ST2 ani w dobie +7, ani w dobie +28 po allo-HSCT.

Status CMV dawcy także wpłynął na stężenie ST2 w dobie +7 i w przypadku dawcy seronegatywnego pod względem CMV był wyższy niż dawcy seropozytywnego (mediana 34271,82 pg/mL vs. 21145,71 pg/mL; $p=0.002101$). Status CMV biorcy nie był istotny statystycznie w badanych punktach czasowych.

Wykazano również, że rodzaj zastosowanego kondycjonowania nie wpłynął na stężenie ST2 w dobie +7 oraz dobie +28 po allo-HSCT. Wyniki te zostały przedstawione w Tabeli 18.

Tabela 18. Istotność statystyczna związku między stężeniem ST2 a zmiennymi jakościowymi

	Status CMV dawcy (p-value)	Status CMV biorcy (p-value)	Płeć Biorcy (p-value)	Źródło Komórek (p-value)	Rodzaj Kondycjonowania (p-value)	Płeć Dawcy (p-value)
ST2 doba +7	0,002101	0,256599	0,009868	0,389405	0,876732	0,681613
ST2 doba +28	0,535808	0,581250	0,344998	0,352946	0,407010	0,302292

Analiza wykazała również, że stosowanie MTX wpływa na stężenie ST2 w dobie +7 po allo-HSCT, stężenie ST2 było bowiem wyższe u pacjentów, u których nie zastosowano MTX niż u pacjentów, u których zastosowano MTX (mediana 41853,97 pg/mL vs. 22403,64 pg/mL; p=0,018845). W dobie +7 po allo-HSCT u pacjentów, u których zastosowano MTX z Cyklosporyną stężenie ST2 było niższe niż u pacjentów, u których zastosowano MTX bez Cyklosporyny (mediana 22403,64 pg/mL vs. 41853,97 pg/mL; p=0.018845).

Badanie nie wykazało korelacji REG3 α i sCD163, oraz ST2 w dobie +28, z w/w zmiennymi jakościowymi.

4.3.7. Związek między stężeniem ST2, REG3 α i sCD163 a zmiennymi ilościowymi

Związek między stężeniem ST2, REG3 α i sCD163 a badanymi zmiennymi ilościowymi został przedstawiony w Tabeli 19.

Tabela 19. Związek między stężeniem ST2, REG3α i sCD163 ze zmiennymi ilościowymi

	wiek	Liczba HSCT	ST2 doba +7	REG3α doba +7	sCD163 doba +7	ST2 doba +28	REG3α doba +28	sCD163 doba +28
ST2 doba +7	0,2459	0,1977	X	0,1272	0,3514	0,3118	0,2711	0,3520
p-value	p=0,142	p=0,241		p=0,453	p=0,033	p=0,060	p=0,105	p=0,033
REG3α doba +7	0,1871	0,2476		X	0,0735	0,0598	0,4950	0,0700
p-value	p=0,268	p=0,139			p=0,666	p=0,725	p=0,002	p=0,681
sCD163 doba +7	0,1858	0,0926			X	0,3268	0,0902	0,4662
p-value	p=0,271	p=0,586				p=0,048	p=0,595	p=0,004
ST2 doba +28	0,0505	0,1474				X	0,2359	0,5311
p-value	p=0,767	p=0,384					p=0,160	p=0,001
REG3α doba +28	0,1616	0,2146					X	0,2107
p-value	p=0,339	p=0,202						p=0,211
sCD163 doba +28	0,1256	0,0813						X

Związek między stężeniem ST2, REG3α i sCD163 a zmiennymi ilościowymi został wyliczony przy pomocy współczynnika korelacji r-Pearsona. Wykazano dodatnią, lecz słabą korelację między stężeniem ST2 w dobie +7 oraz sCD163 w dobie +7 (0,3514; p=0,033) oraz dobie +28 po allo-HSCT (0,3520; p=0,033). Jak również stwierdzono dodatnią, umiarkowaną korelację między stężeniem REG3 w dobie +7 oraz REG3α w dobie +28 (0,4950; p=0,002). Wykazano dodatnią korelację między stężeniem sCD163 w dobie +7 oraz ST2 w dobie +28 (0,3268; p=0,048) i sCD163 (0,4662; p=0,004) w dobie +28. Dodatnia umiarkowana korelacja została wykazana między stężeniem ST2 w dobie +28 oraz sCD163 w dobie +28 (0,5311; p=0,001).

5. DYSKUSJA

Mimo wielu możliwych powikłań allogeniczne przeszczepienie komórek hematopoetycznych jest niejednokrotnie jedyną metodą ratującą życie pacjentów z chorobami nowotworowymi i nienowotworowymi.

Wiodącą przyczyną śmierci chorych poddanych procedurze allo-HSCT niezwiązaną ze wznową jest choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi, która występuje aż u 20-80% pacjentów, dlatego poznanie tego powikłania, w tym metod przewidywania sterydoopornej postaci tej choroby, mogłoby zwiększyć przeżywalność wielu pacjentów[1]. W niektórych przypadkach samo rozpoznanie aGVHD nie jest jednoznaczne, ponieważ niektóre objawy aGVHD, takie jak np. wysypka, biegunka czy podwyższona aktywność enzymów wątrobowych, mogą być podobne do objawów związanych chociażby z toksycznością leków lub infekcją wirusową. Wykonanie badań obrazowych również nie dostarczy jednoznacznych informacji na temat etiologii zaburzeń żołądkowo-jelitowych, ponieważ pogrubienie ściany jelit z poszerzeniem światła, opisywane w badaniu ultrasonograficznym oraz tomografii komputerowej, może wystąpić zarówno w przebiegu GVHD, jak również infekcji jelit lub zapaleniu jelit o innej etiologii[52], [68]. W takim wypadku oprócz objawów klinicznych potrzebne jest wykonanie endoskopii oraz badania histopatologicznego, co nie zawsze jest możliwe m.in. ze względu na stan ogólny pacjenta. Znajomość markerów związanych z ryzykiem wystąpienia aGVHD, w połączeniu z łatwością ich oznaczania, mogłaby mieć pozytywny wpływ na rozpoznanie ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi, wybór odpowiedniej terapii oraz jakość leczenia pacjentów.

W literaturze od kilkadziesiąt lat pojawia się coraz więcej doniesień na temat potencjalnych markerów aGVHD, jednak dane wciąż nie są jednoznaczne. Głównym ograniczeniem takich potencjalnych markerów jest fakt, że zwiększenie stężenia wielu z nich następuje nie tylko w przypadku wystąpienia aGVHD, ale również w wyniku pojawienia się innych powikłań procedury allo-HSCT, takich jak na przykład infekcje lub nawet wynika z samej procedury przeszczepowej i toksyczności leczenia. Do opublikowanych w pracach markerów, które były badane pod kątem korelacji wystąpienia aGVHD po HSCT należą: czynnik martwicy nowotworów (ang. *tumor necrosis factor α - TNF- α*), receptor czynnika martwicy nowotworu 1 (ang. *tumor necrosis factor receptor superfamily member 1A - TNFR1*), interleukina 8, łańcuch alfa receptora dla interleukiny 2, czynnik wzrostu hepatocytów (ang. *hepatocyte growth factor - HGF*), czy elafina[44], [49], [69]. J. E. Levine i wsp. opisują przewagę

markerów ST2, REG3 α i TNF- α nad objawami klinicznymi GI-GVHD wynikającą z faktu, że ich stężenie na początku choroby lepiej koreluje z jej aktywnością [70]. Wielośrodkową oceną aGVHD oraz walidacją markerów zajmuje się międzynarodowe konsorcjum Mount Sinai Acute GVHD ("MAGIC") [71]. W swojej pracy N. Spyrou i wsp. starali się udoskonalić zaproponowany przez konsorcjum MAGIC algorytm prawdopodobieństwa (ang. *MAGIC Algorithm Probability - MAP*), który łączy ST2 i REG3 α do przewidywania takich punktów końcowych jak NRM, poprzez uwzględnienie objawów klinicznych pacjentów, co razem wydaje się być lepszym predyktorem śmiertelności [72].

W wielu dostępnych publikacjach, opierających się na prospektywnie przeprowadzonych badaniach, znajdują się doniesienia o korelacji stężenia REG3 α z jelitową postacią choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. J.L.M Ferrara i wsp. opublikowali wyniki badań, gdzie zauważono trzykrotnie wyższe stężenia markera REG3 α u pacjentów z GI-GVHD w porównaniu z pacjentami bez GI-GVHD. W tym samym badaniu u pacjentów, u których wystąpiły objawy żołądkowo-jelitowe o podłożu GVHD odnotowano pięciokrotny wzrost markera REG3 α na początku objawów w porównaniu do pacjentów z biegunką o innej etiologii niż GVHD [35]. W publikacji L. Solan również zauważa, że REG3 α może pomóc w odróżnieniu jelitowej postaci GVHD od innych przyczyn uszkodzenia jelit np. toksyczności leczenia, chorób autoimmunologicznych lub infekcji [57]. W odróżnieniu do cytowanych autorów, w niniejszym badaniu nie zaobserwowano zależności między stężeniem REG3 α ani z wystąpieniem aGVHD, ani ze sterydooporną postacią aGVHD. Z uwagi na małą ilość pacjentów oraz z uwagi na fakt włączenia do badania wyłącznie pacjentów pediatrycznych, nie można było ocenić korelacji REG3 α z GI-GVHD. W przyszłości warto zatem poprowadzić długoterminową obserwację z większą liczbą pacjentów.

W wielu publikacjach wskazuje się na powiązanie ST2 z wystąpieniem powikłań po allo-HSCT, w tym z wystąpieniem sterydoopornej postaci aGVHD oraz ze wzrostem ryzyka śmiertelności niezwiązanej ze wznową [57], [67], [73]. W badaniu zaobserwowano istotnie statystycznie wyższe stężenie ST2 w dobie +28 u chorych z aGVHD, jak również ze sterydooporną postacią aGVHD, niż u osób nie chorujących na to powikłanie po allo-HSCT. Niemniej, skoro średni dzień wystąpienia aGVHD wynosił 24 dni, a mediana 19 dni – wobec tego stężenie ST2 w dobie +28 nie wydaje się być markerem prognostycznym, który może świadczyć o rozwoju aGVHD, ale jest swego rodzaju markerem potwierdzającym aGVHD. Wobec tego rodzi się pytanie, czy ST2 może być markerem służącym do monitorowania

aktywności aGVHD? Być może należałoby monitorować stężenie ST2 nie w dobie +7 tylko w dobie +14, +21 i +28. Ta hipoteza wymaga dalszych, najlepiej wielośrodkowych badań.

Na temat korelacji białka sCD163 z aGVHD jest jeszcze mniej doniesień naukowych. W dostępnej literaturze znajdziemy jednak dane odnośnie związku białka sCD163 z wystąpieniem cGVHD [74]. Warto zaznaczyć, że niektórzy autorzy np. T. Konuma i wsp. nie zaobserwowali podobnej zależności [75]. W niniejszym badaniu nie wykazano związku wysokiego stężenia sCD163 ani z pojawieniem się aGVHD, ani z pojawieniem się sterydoopornej postaci aGVHD w całej kohorcie pacjentów. Niemniej, zaobserwowano, że w kohorcie pacjentów z aGVHD, stężenie sCD163 w dobach +28 po allo-HSCT oraz w dobie +1 leczenia aGVHD było istotnie niższe u pacjentów ze sterydooporną postacią aGVHD niż u chorych, którzy leczeni byli sterydami z dobrym efektem klinicznym. Sugeruje to, że pacjenci z aGVHD, którzy mieliby stężenie sCD163 niższe mieliby większą szansę na rozwinięcie sterydoopornego aGVHD. Tych pacjentów można by więc wstępnie zakwalifikować do grupy pacjentów wyższego ryzyka sterydoopornego aGVHD i wobec tego włączenia innego leczenia w momencie rozpoznania aGVHD. Jednak jak wspomniano wcześniej badana kohorta pacjentów z aGVHD wydaje się być za mała aby postawić jednoznaczne wnioski. Z uwagi na dość krótki, siedmiomiesięczny okres obserwacji, nie są dostępne wyniki korelacji wysokiego stężenia sCD163 z wystąpieniem cGVHD – wymaga to dalszych, długoterminowych badań.

W dostępnych publikacjach można znaleźć informacje na temat korelacji stężenia badanych w niniejszej pracy białek ST2, REG3 α i sCD163 z powikłaniami po allo-HSCT innymi niż ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi. Z uwagi na to, jest to pewne ograniczenie przedstawionego badania szukającego związku badanych białek z aGVHD. Mimo, że do tej pory nie oznaczono markerów specyficznych dla choroby wenoekluzyjnej wątroby, to istnieją doniesienia, że podwyższone stężenie markerów ST2 i REG3 α mogą korelować z ryzykiem pojawienia się VOD/SOS [73], [76], [77]. A. Zaid i wsp. zwrócili w swojej pracy także uwagę na fakt, że stężenie markera ST2 nie różniło się u pacjentów z SOS/VOD w przypadku braku lub pojawienia się GVHD, chociaż wzrost stężenia pojawiał się szybciej w przebiegu GVHD niż SOS/VOD [73], [77]. W niniejszej pracy nie zaobserwowano różnicy w stężeniach ST2 u chorych z aGVHD, którzy rozwinęli VOD, jednak stwierdzono w całej kohorcie pacjentów, że wysokie stężenie markera u ST2 w dobie +28 po allo-HSCT koreluje z wystąpieniem SOS/VOD. Wobec tego wyniki te sugerują, że badanie stężenia ST2 mogłoby potencjalnie ułatwić klinicytom diagnozę VOD, jednak wobec występowania VOD na ogół przed 21 dobą

po HSCT, należałoby rozpocząć monitorowanie w trzecim tygodniu po transplantacji. Zwiększenie stężenia ST2 u pacjentów z VOD może również sugerować, że aGVHD należy do grupy powikłań związanych z uszkodzeniem śródbłonka naczyń (ang. *endothelial complications*). Badanie nie wykazało natomiast związku pomiędzy pojawieniem się VOD, a stężeniami pozostałych badanych białek tj. REG3 α oraz sCD163.

Badane w niniejszej pracy białka mogą mieć opisywany przez innych badaczy związek z chorobami serca oraz płuc. W literaturze dostępne jest badanie E.O. Weinberg i wsp. sugerujące związek markera ST2 z wystąpieniem chorób sercowo-naczyniowych, a w przypadku niewydolności serca (NYHA III-IV) służący nawet jako predyktor późniejszej śmiertelności[56]. Dodatkowo, istnieją doniesienia o wpływie nadciśnienia płucnego na stężenie markera ST2[78], [79]. W niniejszym badaniu powikłania płucne oraz kardiologiczne nie wpłynęły na stężenia ST2, REG3 α oraz sCD163. Natomiast, zaobserwowano związek pomiędzy wysokim stężeniem markera REG3 α w dobie +28, a wystąpieniem zespołu przeziąkania włósniczek. Inni autorzy nie opisują tej korelacji, co sugeruje, że wynik może być efektem małej grupy pacjentów z CLS objętych niniejszym badaniem[80]. W pracy wykazano również korelacje ST2 w dobie +28 po allo-HSCT z powikłaniami krwotocznymi. J.F.P. Wagenaar i wsp. także opisali związek ostrego krwawienia, w przebiegu zakażenia *Leptospirozą*, z podwyższonym stężeniem ST-2. Autorzy przypuszczają, że zakłócenie bariery komórek śródbłonka, co jest prawdopodobnie przyczyną krwotoków występujących w ciężkiej leptospirozie, odsłania ukryte fibroblasty i w ten sposób wpływa na wyższe stężenie ST-2[81]. Niemniej, zbyt mała grupa analizowanych pacjentów, mająca wspomniane powikłania, nie pozwala na jednoznaczne napisanie wniosków dotyczącego ich korelacji ze stężeniami ST2, REG3 α oraz sCD163.

Mimo, że jak wcześniej wspomniano, wielu badaczy potwierdziło korelację między stężeniem REG3 α , a wystąpieniem GI-GVHD, to jego podwyższone stężenie zostało także udokumentowane w przypadku innych chorób jelit niezwiązanych z procedurą przeszczepienia komórek hematopoetycznych. S. Isnard i wsp. wykazali podwyższone stężenie REG3 α u pacjentów zakażonych wirusem HIV, podczas gdy I.Marafini i wsp. w swoim badaniu obserwowali taki wzrost u większości pacjentów z chorobą Crohna oraz wrzodziejącym zapaleniem jelit[58], [82]. Sugeruje to, że REG3 α związane jest m.in. z procesami zapalnymi, infekcyjnymi oraz autoimmunologicznymi, i nie wydaje się być białkiem swoistym tylko dla GI-GVHD.

Białko sCD163 również wydaje się mieć związek z wieloma chorobami. W artykule M.K. Skyttke i wsp. można znaleźć zestawienie badań potwierdzających korelację stężenia markera sCD163 z wystąpieniem chorób o podłożu zapalnym oraz infekcyjnym takich jak m.in.: sepsa, HIV, wirusowe zapalenie wątroby, malaria, zespół hemofagocytarny, ostre zespoły wieńcowe, ostre uszkodzenie nerek, miażdżyca, cukrzyca, stwardnienie rozsiane, twardzina układowa, toczeń i inne[64].

Mimo, że prowadzonych jest wiele badań dotyczących związku w/w białek z ostrą chorobą przeszczep przeciwko gospodarzowi, to ich ograniczeniem wydaje się być samo rozpoznanie, jak również stopniowanie aGVHD różniące się między ośrodkami. Nie ma jednoznacznych zaleceń dotyczących skali, która powinny być używana przez klinicystów do stopniowania ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. Do tej pory w tym celu stosowano m.in. skalę Glucksberga, zmodyfikowaną skalę Glucksberga, skalę według IBMTR, kryteria "Keystone" oraz kryteria międzynarodowego konsorcjum Mount Sinai Acute GVHD. W 2018 roku grupa ekspertów EBMT-NIH-CIBMTR zarekomendowała kryteria "MAGIC" jako najbardziej optymalne, jednak do tej pory wiele ośrodków stosuje zmodyfikowaną skalę Glucksberga do oceny nasilenia ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi[41]. Skale te różnią się między sobą, wpływając na różnicę w stopniu aGVHD, a w konsekwencji na wyniki analiz, utrudniając tym samym porównanie badań prowadzonych w różnych ośrodkach. Podobnym ograniczeniem wydają się być różnice wynikające z samej oceny przez klinicystów objawów ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. Różnice w ocenie wysypki i jej rozległości wpływają na stopień skórnej postaci aGVHD, a oceny aktywności transaminaz przy braku wzrostu stężenia bilirubiny może mieć wpływ na stopień wątrobowej postaci aGVHD[37]. W Klinice, w której hospitalizowano pacjentów objętym niniejszym badaniem nasilenie aGVHD oceniano przy użyciu zmodyfikowanej skali Glucksberga, z modyfikacją Jacobsohna do oceny zaawansowania jelitowej postaci aGVHD.

Etiologia ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi zależy od wielu czynników takich jak: rodzaj dawcy, wiek pacjenta, rodzaj kondycjonowania czy źródło komórek hematopoetycznych[2]. W pracy nie stwierdzono, aby na ryzyko rozwinięcia aGVHD badanych pacjentów wpłynęły takie czynniki jak choroba podstawowa, rodzaj zastosowanego kondycjonowania, rodzaj dawcy. Nie wykazano także, aby u biorców płci męskiej wystąpiło wyższe ryzyko aGVHD w przypadku dawcy płci żeńskiej, o czym istnieją rozbieżne w publikacjach doniesienia[83], [84]. Jednak na wystąpienie aGVHD wpłynęło zastosowanie

krwi obwodowej jako źródła komórek hematopoetycznych, co jest naturalne ze względu na większą ilość limfocytów T niż w przypadku allo-HSCT kiedy źródłem jest szpik kostny, oraz fakt wykonania drugiego allo-HSCT. W przypadku pierwszej procedury allo-HSCT obserwowano większy odsetek aGVHD, co może wynikać to z faktu, że podczas drugiej transplantacji na ogół stosuje się kondycjonowanie o zredukowanej toksyczności, które związane jest z mniejszym ryzykiem aGVHD. Ponadto, drugie procedury wykonuje się nierzadko od tych samych dawców, co procedury pierwsze, więc biorca dysponuje już pewnego rodzaju tolerancją immunologiczną wobec dawcy, a dawca wobec biorcy. W badaniu L.V.E. Oostenbrink i wsp. porównującym rodzaj zastosowanej globuliny antytymocytarnej w ramach leczenia kondycjonującego uzyskano większy odsetek ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi w stopniu III-IV w grupie pacjentów, u których zastosowano ATG-Genzyme niż ATG-Fresenius[47]. U większości pacjentów objętym niniejszym badaniem zastosowano ATG-Fresenius (Grafalon®) i nie zaobserwowano wpływu stosowania ATG na wystąpienie aGVHD, jak również na pojawienie się wysokich stężeń ST2, REG3 α i sCD163. Według niektórych autorów kondycjonowanie może mieć wpływ na stężenie ST2. M.T.V Lugt i wsp. zaobserwowali nawet czterokrotnie wyższe stężenie ST2 u pacjentów, którzy otrzymali kondycjonowanie mieloablacyjne w porównaniu do kondycjonowania o zredukowanej intensywności, co może mieć oczywisty związek większą toksycznością MAC uszkadzającą tkanki[51]. W przedstawionym badaniu nie zaobserwowano jednak, aby kondycjonowanie miało związek ani z podwyższonym stężeniem ST2, ani pozostałych białek tj. REG3 α oraz sCD163. W przypadku leków stosowanych w profilaktyce aGVHD, zaobserwowano istotny statycznie wpływ MTX na stężenie ST2: stężenie ST2 było niższe u pacjentów, u których zastosowano MTX, co może sugerować, że odgrywa on istotną rolę w profilaktyce aGVHD.

W niniejszym badaniu analizowano także związek stężenia ST2, REG3 α oraz sCD163 z czynnikami przeżycia takimi jak OS i NRM oraz z ryzykiem wznowy. Nie stwierdzono korelacji badanych białek w żadnym punkcie czasowym z OS ani NRM. Podobnie jak w dostępnych publikacjach, nie stwierdzono korelacji stężenia ST2 z ryzykiem wznowy[73]. REG3 α oraz sCD163 także nie korelowały z wystąpieniem wznowy.

Od wielu lat prowadzone są badania nad potencjalnym wpływem infekcji CMV oraz jej leczenia na rozwój ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. O ile wpływ samego leczenia GVHD powodującego immunosupresję ma oczywisty związek ze wzrostem ryzyka infekcji CMV, to odwrotna korelacja przyczynowo-skutkowa nie została obecnie

potwierdzona[85]. Podobnie jak w badaniu L-R Wang i wsp. w niniejszej pracy nie potwierdzono zwiększonego ryzyka aGVHD w przypadku wystąpienia infekcji CMV[86]. Niemniej, istnieją publikacje wskazujące na mniejsze ryzyko wystąpienia GVHD u biorcy CMV-seronegatywnego, który otrzymuje komórki hematopoetyczne od CMV-seronegatywnego dawcy[2]. W niniejszym badaniu nie zaobserwowano podobnej zależności. Co więcej, najmniejszy odsetek aGVHD zaobserwowano u seropozytywnych biorców, którzy otrzymali komórki hematopoetyczne od seronegatywnych dawców. Wprawdzie, aż 11/18 pacjentów reaktywowało CMV w tej grupie, ale nie spowodowało to bezpośredniej aktywacji limfocytów cytotoksycznych i promocji GVHD.

Niniejsze badanie ukazuje złożoność ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi, zwraca uwagę na trudności diagnostyczne tego powikłania, pokazuje próbę odnalezienia markerów aGVHD oraz sterydoopornej postaci tej choroby, co mogłoby polepszyć wyniki leczenia pacjentów poddawanych procedurze allo-HSCT. Białko ST2 wydaje się być najlepiej związane z wystąpieniem aGVHD oraz sterydoopornej postaci aGVHD, może być markerem służącym do monitorowania jej aktywności lub potwierdzającym aGVHD, gdyż jego stężenie jest wysokie dopiero w dobie +28 po allo-HSCT. Niezbędne są jednak dalsze badania na większej próbie pacjentów, pozwalające ocenić również inne powikłania występujące po procedurze przeszczepowej, które mogą interferować ze stężeniami badanych markerów. Również niezbędne są badania ukierunkowane na grupę pacjentów aGVHD, które pozwoliłyby jednoznacznie zweryfikować znaczenie stężenia markera ST2 w dobie +28, sCD163 w dobie +28 i +1 GVHD jako potencjalnych czynników rokowniczych pozwalających na ocenę prawdopodobieństwa wystąpienia aGVHD u pacjentów po allo-HSCT. Wobec faktu, iż mediana wystąpienia aGVHD w badanej grupie pacjentów to 19 dni po HSCT, należy wdrożyć do standardu monitorowania pacjentów ocenę stężenia ST2 w dobie +14, +21 i +28, a także należy rozważyć ocenę stężenia ST2 i sCD163 w trakcie pierwszego tygodnia leczenia aGVHD.

6. WNIOSKI

1. ST2 może być markerem służącym do monitorowania aktywności aGVHD lub potwierdzającym aGVHD, gdyż jego stężenie u chorych z aGVHD w dobie +28 jest wysokie, natomiast wzrostu stężenia tego markera nie obserwuje się w dobie +7, co wyklucza go jako wczesnego markera prognostycznego.
2. Wobec faktu, iż mediana wystąpienia aGVHD w badanej grupie pacjentów to 19 dni po HSCT, należy wdrożyć do standardu monitorowania pacjentów ocenę stężenia ST2 w dobie +14, +21 i +28 po allo-HSCT.
3. ST2 może być markerem sterydoopornej postaci aGVHD, ponieważ jego stężenie rośnie u pacjentów ze sterydooporną postacią aGVHD. Dlatego należy rozważyć ocenę stężenia ST2 w trakcie pierwszego tygodnia leczenia aGVHD.
4. Zwiększenie stężenia ST2 u pacjentów z VOD może sugerować, że aGVHD należy do grupy powikłań związanych z uszkodzeniem śródbłonna naczyń.
5. Niezbędne są dalsze badania na większej próbie pacjentów, ukierunkowane na grupę aGVHD, które pozwoliłyby zweryfikować znaczenie stężenia ST2 w dobie +28 oraz sCD163 w dobie +28 i +1GVHD jako potencjalnych czynników rokowniczych pozwalających na ocenę prawdopodobieństwa wystąpienia aGVHD u pacjentów po procedurze allo-HSCT.

7. PIŚMIENICTWO

- [1] A. Xhaard *et al.*, “Steroid-Refractory Acute GVHD: Lack of Long-Term Improved Survival Using New Generation Anticytokine Treatment,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2012, doi: 10.1016/j.bbmt.2011.06.012.
- [2] C. Cutler and J. H. Antin, “Manifestations and Treatment of Acute Graft-versus-Host Disease,” in *Thomas’ Hematopoietic Cell Transplantation: Fifth Edition*, 2016.
- [3] P. J. Martin, “How I treat steroid-refractory acute graft-versus-host disease,” *Blood*, 2020, doi: 10.1182/blood.2019000960.
- [4] F. Locatelli, D. Pende, M. Falco, M. Della Chiesa, A. Moretta, and L. Moretta, “NK Cells Mediate a Crucial Graft-versus-Leukemia Effect in Haploidentical-HSCT to Cure High-Risk Acute Leukemia,” *Trends in Immunology*. 2018, doi: 10.1016/j.it.2018.04.009.
- [5] S. S. Kantha, “The blood revolution initiated by the famous footnote of Karl Landsteiner’s 1900 paper.,” *Ceylon Med. J.*, 1995.
- [6] E. E. OSGOOD, M. C. RIDDLE, and T. J. MATHEWS, “APLASTIC ANEMIA TREATED WITH DAILY TRANSFUSIONS AND INTRAVENOUS MARROW; CASE REPORT,” *Ann. Intern. Med.*, vol. 13, no. 2, pp. 357–367, Aug. 1939, doi: 10.7326/0003-4819-13-2-357.
- [7] M. Markiewicz and S. Kyrz-Krzemien, “Allogeniczne przeszczepienie komórek krwiotwórczych : stan obecny i perspektywy rozwoju Allogeneic hematopoietic cell transplantation : current state and future perspectives,” no. 6, pp. 479–485, 2011.
- [8] D. W. H. Barnes and J. F. Loutit, “Treatment of Murine Leukaemia with X-Rays and Homologous Bone Marrow: II,” *Br. J. Haematol.*, 1957, doi: 10.1111/j.1365-2141.1957.tb05793.x.
- [9] S. Ghimire, D. Weber, E. Mavin, X. N. Wang, A. M. Dickinson, and E. Holler, “Pathophysiology of GvHD and other HSCT-related major complications,” *Frontiers in Immunology*. 2017, doi: 10.3389/fimmu.2017.00079.
- [10] E. D. Thomas, H. L. Lochte, W. C. Lu, and J. W. Ferrebee, “Intravenous Infusion of

- Bone Marrow in Patients Receiving Radiation and Chemotherapy,” *N. Engl. J. Med.*, 1957, doi: 10.1056/nejm195709122571102.
- [11] I. Henig and T. Zuckerman, “Hematopoietic Stem Cell Transplantation—50 Years of Evolution and Future Perspectives,” *Rambam Maimonides Med. J.*, 2014, doi: 10.5041/rmmj.10162.
- [12] R. A. Gatti, H. J. Meuwissen, H. D. Allen, R. Hong, and R. A. Good, “Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency,” *Lancet*, 1968, doi: 10.1016/s0140-6736(68)92673-1.
- [13] R. Machowicz, “Historia przeszczepiania szpiku w Polsce,” *Nowotwory*. 2014, doi: 10.5603/NJO.2014.0075.
- [14] M. Körbling and E. J. Freireich, “Twenty-five years of peripheral blood stem cell transplantation,” *Blood*, vol. 117, no. 24. pp. 6411–6416, 2011, doi: 10.1182/blood-2010-12-322214.
- [15] X. Yu *et al.*, “Bone marrow versus peripheral blood as a graft source for haploidentical donor transplantation in adults using post-transplant cyclophosphamide—A systematic review and meta-analysis,” *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2019, doi: 10.1016/j.critrevonc.2018.05.017.
- [16] A. D’Souza, I. Jaiyesimi, L. Trainor, and P. Venuturumili, “Granulocyte Colony-Stimulating Factor Administration: Adverse Events,” *Transfusion Medicine Reviews*, vol. 22, no. 4. pp. 280–290, 2008, doi: 10.1016/j.tmr.2008.05.005.
- [17] J. Styczyński, “Bezpieczeństwo dawców krwiotwórczych komórek macierzystych,” *Hematologia*, 2012.
- [18] E. Spierings and K. Fleischhaue, “Histocompatibility,” in *The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies*, 2018.
- [19] V. Apostolopoulos, E. Lazoura, and M. Yu, “MHC and MHC-like molecules: Structural perspectives on the design of molecular vaccines,” *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2008, doi: 10.1007/978-0-387-09789-3_19.
- [20] J. Nowak, “Rola niezgodności HLA w transplantacjach komórek krwiotwórczych,” *Hematologia*. 2010.

- [21] F. Ayuk and A. Balduzzi, “Donor selection for adults and pediatrics,” in *The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies*, 2018.
- [22] R. F. Duarte *et al.*, “Indications for haematopoietic stem cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2019,” *Bone Marrow Transplant.*, 2019, doi: 10.1038/s41409-019-0516-2.
- [23] J. Wachowiak *et al.*, “Wskazania do transplantacji komórek krwiotwórczych u dzieci i młodzieży - rekomendacje Polskiej Pediatrycznej Grupy ds. Transplantacji Komórek Krwiotwórczych - 2014,” *Acta Haematologica Polonica*. 2014, doi: 10.1016/j.achaem.2014.09.001.
- [24] H. Nakasone *et al.*, “Risks and benefits of sex-mismatched hematopoietic cell transplantation differ according to conditioning strategy,” *Haematologica*, 2015, doi: 10.3324/haematol.2015.125294.
- [25] C. Peters, J. M. Cornish, S. H. Parikh, and J. Kurtzberg, “Stem Cell Source and Outcome After Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) in Children and Adolescents with Acute Leukemia,” *Pediatric Clinics of North America*. 2010, doi: 10.1016/j.pcl.2010.01.004.
- [26] M. Gooptu *et al.*, “A Comparison of the Myeloablative Conditioning Regimen Fludarabine/Busulfan with Cyclophosphamide/Total Body Irradiation, for Allogeneic Stem Cell Transplantation in the Modern Era: A Cohort Analysis,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2018, doi: 10.1016/j.bbmt.2018.03.011.
- [27] S. Servais, F. Baron, and Y. Beguin, “Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) after reduced intensity conditioning,” *Transfus. Apher. Sci.*, 2011, doi: 10.1016/j.transci.2011.01.019.
- [28] P. Veys, “Reduced intensity transplantation for primary immunodeficiency disorders,” *Pediatr. Rep.*, 2011, doi: 10.4081/pr.2011.s2.e11.
- [29] I. Trajkovska, B. Georgievski, L. Cevreska, A. Gacovski, T. Hasan, and N. Nedeska-Minova, “Early and late complications in patients with allogeneic transplantation of hematopoietic stem cell – Case report,” *Maced. J. Med. Sci.*, vol. 5, no. 3, pp. 340–343, 2017, doi: 10.3889/oamjms.2017.038.

- [30] S. Corbacioglu *et al.*, “Diagnosis and severity criteria for sinusoidal obstruction syndrome/veno-occlusive disease in pediatric patients: A new classification from the European society for blood and marrow transplantation,” *Bone Marrow Transplant.*, vol. 53, no. 2, pp. 138–145, 2018, doi: 10.1038/bmt.2017.161.
- [31] F. Bonifazi *et al.*, “Diagnosis and Treatment of VOD/SOS After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation,” *Frontiers in Immunology*. 2020, doi: 10.3389/fimmu.2020.00489.
- [32] J. L. Espinoza, Y. Wadasaki, and A. Takami, “Infection Complications in Hematopoietic Stem Cells Transplant Recipients: Do Genetics Really Matter?,” *Front. Microbiol.*, vol. 9, p. 2317, Oct. 2018, doi: 10.3389/fmicb.2018.02317.
- [33] R. Lin and Q. Liu, “Diagnosis and treatment of viral diseases in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation,” *J. Hematol. Oncol.*, vol. 6, no. 1, pp. 1–14, 2013, doi: 10.1186/1756-8722-6-94.
- [34] D. A. Jacobsohn and G. B. Vogelsang, “Acute graft versus host disease,” *Orphanet J. Rare Dis.*, 2007, doi: 10.1186/1750-1172-2-35.
- [35] J. L. M. Ferrara *et al.*, “Regenerating islet-derived 3-alpha is a biomarker of gastrointestinal graft-versus-host disease,” *Blood*, 2011, doi: 10.1182/blood-2011-08-375006.
- [36] D. A. Jacobsohn, “Acute graft-versus-host disease in children,” *Bone Marrow Transplantation*. 2008, doi: 10.1038/sj.bmt.1705885.
- [37] F. Malard, X. J. Huang, and J. P. Y. Sim, “Treatment and unmet needs in steroid-refractory acute graft-versus-host disease,” *Leukemia*. 2020, doi: 10.1038/s41375-020-0804-2.
- [38] M. Nighot *et al.*, “Lipopolysaccharide-Induced Increase in Intestinal Epithelial Tight Permeability Is Mediated by Toll-Like Receptor 4/Myeloid Differentiation Primary Response 88 (MyD88) Activation of Myosin Light Chain Kinase Expression,” *Am. J. Pathol.*, 2017, doi: 10.1016/j.ajpath.2017.08.005.
- [39] P. Apostolova and R. Zeiser, “The role of danger signals and ectonucleotidases in acute graft-versus-host disease,” *Hum. Immunol.*, 2016, doi: 10.1016/j.humimm.2016.02.005.

- [40] K. A. Markey *et al.*, “Conventional dendritic cells are the critical donorAPC presenting alloantigen after experimental bone marrow transplantation,” *Blood*, 2009, doi: 10.1182/blood-2008-12-191833.
- [41] H. M. Schoemans *et al.*, “EBMT–NIH–CIBMTR Task Force position statement on standardized terminology & guidance for graft-versus-host disease assessment,” *Bone Marrow Transplant.*, 2018, doi: 10.1038/s41409-018-0204-7.
- [42] P. Gopinath and R. Mihai, “Hyperparathyroidism,” *Surgery*. 2011, doi: 10.1016/j.mpsur.2011.06.015.
- [43] A. C. Vigorito *et al.*, “Evaluation of NIH consensus criteria for classification of late acute and chronic GVHD,” *Blood*, 2009, doi: 10.1182/blood-2009-03-208983.
- [44] A. M. Ali, J. F. DiPersio, and M. A. Schroeder, “The Role of Biomarkers in the Diagnosis and Risk Stratification of Acute Graft-versus-Host Disease: A Systematic Review,” *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2016, doi: 10.1016/j.bbmt.2016.04.022.
- [45] P. A. Rowlings *et al.*, “IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease: Retrospective comparison with Glucksberg grade,” *Br. J. Haematol.*, 1997, doi: 10.1046/j.1365-2141.1997.1112925.x.
- [46] A. C. Harris *et al.*, “International, Multicenter Standardization of Acute Graft-versus-Host Disease Clinical Data Collection: A Report from the Mount Sinai Acute GVHD International Consortium,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2016, doi: 10.1016/j.bbmt.2015.09.001.
- [47] L. V. E. Oostenbrink *et al.*, “Differential elimination of anti-thymocyte globulin of Fresenius and genzyme impacts T-cell reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation,” *Front. Immunol.*, 2019, doi: 10.3389/fimmu.2019.00315.
- [48] D. Wolff, G. Fatobene, V. Rocha, N. Kröger, and M. E. Flowers, “Steroid-refractory chronic graft-versus-host disease: treatment options and patient management,” *Bone Marrow Transplant.*, vol. 56, no. 9, pp. 2079–2087, 2021, doi: 10.1038/s41409-021-01389-5.
- [49] C. M. Rowan and S. Paczesny, “Biomarkers for Early Complications After Hematopoietic Stem Cell Transplantation,” *Clinics in Laboratory Medicine*. 2019, doi:

10.1016/j.cll.2018.10.005.

- [50] J. Pidala *et al.*, “National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: IIb. The 2020 Preemptive Therapy Working Group Report,” *Transplant. Cell. Ther.*, 2021, doi: 10.1016/j.jtct.2021.03.029.
- [51] M. T. Vander Lugt *et al.*, “ST2 as a Marker for Risk of Therapy-Resistant Graft-versus-Host Disease and Death,” *N. Engl. J. Med.*, 2013, doi: 10.1056/nejmoa1213299.
- [52] H. Brodoefel *et al.*, “Early and late-onset acute GvHD following hematopoietic cell transplantation: CT features of gastrointestinal involvement with clinical and pathological correlation,” *Eur. J. Radiol.*, vol. 73, no. 3, pp. 594–600, Mar. 2010, doi: 10.1016/j.ejrad.2009.01.011.
- [53] J. Schmitz *et al.*, “IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines,” *Immunity*, 2005, doi: 10.1016/j.immuni.2005.09.015.
- [54] M. J. Sweet *et al.*, “A Novel Pathway Regulating Lipopolysaccharide-Induced Shock by ST2/T1 Via Inhibition of Toll-Like Receptor 4 Expression,” 2022, doi: 10.4049/jimmunol.166.11.6633.
- [55] J. J. Hoogerwerf, M. W. T. Tanck, M. A. D. van Zoelen, X. Wittebole, P.-F. Laterre, and T. van der Poll, “Soluble ST2 plasma concentrations predict mortality in severe sepsis,” *Intensive Care Med.*, vol. 36, no. 4, pp. 630–637, Apr. 2010, doi: 10.1007/s00134-010-1773-0.
- [56] E. O. Weinberg, M. Shimpo, S. Hurwitz, S. ichi Tominaga, J. L. Rouleau, and R. T. Lee, “Identification of serum soluble ST2 receptor as a novel heart failure biomarker,” *Circulation*, 2003, doi: 10.1161/01.CIR.0000047274.66749.FE.
- [57] L. Solán *et al.*, “ST2 and REG3 α as Predictive Biomarkers After Haploidentical Stem Cell Transplantation Using Post-transplantation High-Dose Cyclophosphamide,” *Front. Immunol.*, 2019, doi: 10.3389/fimmu.2019.02338.
- [58] S. Isnard *et al.*, “Plasma Levels of C-Type Lectin REG3 α and Gut Damage in People With Human Immunodeficiency Virus,” *J. Infect. Dis.*, 2020, doi: 10.1093/infdis/jiz423.

- [59] D. Zhao *et al.*, “Survival signal REG3 α prevents crypt apoptosis to control acute gastrointestinal graft-versus-host disease,” *J. Clin. Invest.*, 2018, doi: 10.1172/JCI99261.
- [60] M. Kristiansen *et al.*, “Identification of the haemoglobin scavenger receptor,” *Nature*, 2001, doi: 10.1038/35051594.
- [61] D. J. Schaer, A. I. Alayash, and P. W. Buehler, “Gating the radical hemoglobin to macrophages: The anti-inflammatory role of CD163, a scavenger receptor,” *Antioxidants and Redox Signaling*. 2007, doi: 10.1089/ars.2007.1576.
- [62] M. B. Maniecki, H. J. Møller, S. K. Moestrup, and B. K. Møller, “CD163 positive subsets of blood dendritic cells: The scavenging macrophage receptors CD163 and CD91 are coexpressed on human dendritic cells and monocytes,” *Immunobiology*, 2006, doi: 10.1016/j.imbio.2006.05.019.
- [63] R. B. Walter, E. B. Bächli, D. J. Schaer, R. Rüegg, and G. Schoedon, “Expression of the hemoglobin scavenger receptor (CD163/HbSR) as immunophenotypic marker of monocytic lineage in acute myeloid leukemia [5],” *Blood*. 2003, doi: 10.1182/blood-2002-11-3414.
- [64] M. K. Skytthe, J. H. Graversen, and S. K. Moestrup, “Targeting of cd163+ macrophages in inflammatory and malignant diseases,” *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, doi: 10.3390/ijms21155497.
- [65] H. J. Møller, “Soluble CD163,” *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2012, doi: 10.3109/00365513.2011.626868.
- [66] S. Nishiwaki *et al.*, “Impact of macrophage infiltration of skin lesions on survival after allogeneic stem cell transplantation: A clue to refractory graft-versus-host disease,” *Blood*, 2009, doi: 10.1182/blood-2009-03-209635.
- [67] D. M. Ponce *et al.*, “High day 28 ST2 levels predict for acute graft-versus-host disease and transplant-related mortality after cord blood transplantation,” *Blood*, 2015, doi: 10.1182/blood-2014-06-584789.
- [68] M. Salomao, K. Dorritie, M. Y. Mapara, and A. Sepulveda, “Histopathology of Graft-vs-Host Disease of Gastrointestinal Tract and Liver: An Update,” *Am. J. Clin. Pathol.*, vol. 145, no. 5, pp. 591–603, May 2016, doi: 10.1093/ajcp/aqw050.

- [69] J. L. Ferrara, J. E. Levine, P. Reddy, and E. Holler, "Graft-versus-host disease," *The Lancet*. 2009, doi: 10.1016/S0140-6736(09)60237-3.
- [70] J. E. Levine *et al.*, "A prognostic score for acute graft-versus-host disease based on biomarkers: A multicentre study," *Lancet Haematol.*, 2015, doi: 10.1016/S2352-3026(14)00035-0.
- [71] H. Major-Monfried *et al.*, "MAGIC biomarkers predict long-term outcomes for steroid-resistant acute GVHD," *Blood*, 2018, doi: 10.1182/blood-2018-01-822957.
- [72] N. Spyrou, J. E. Levine, and J. L. M. Ferrara, "Acute GVHD: New approaches to clinical trial monitoring," *Best Pract. Res. Clin. Haematol.*, vol. 35, no. 4, p. 101400, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.beha.2022.101400>.
- [73] M. A. Zaid *et al.*, "Plasma biomarkers of risk for death in a multicenter phase 3 trial with uniform transplant characteristics post-allogeneic HCT," *Blood*, 2017, doi: 10.1182/blood-2016-08-735324.
- [74] Y. Inamoto *et al.*, "Association of Plasma CD163 Concentration with De Novo-Onset Chronic Graft-versus-Host Disease," *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2017, doi: 10.1016/j.bbmt.2017.04.019.
- [75] T. Konuma *et al.*, "Circulating monocyte subsets in human chronic graft-versus-host disease," *Bone Marrow Transplant.*, 2018, doi: 10.1038/s41409-018-0187-4.
- [76] B. Balakrishnan *et al.*, "Prognostic plasma biomarkers of early complications and graft-versus-host disease in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation," *eJHaem*, 2020, doi: 10.1002/jha2.26.
- [77] A. Akil *et al.*, "Biomarkers for Diagnosis and Prognosis of Sinusoidal Obstruction Syndrome after Hematopoietic Cell Transplantation," *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2015, doi: 10.1016/j.bbmt.2015.07.004.
- [78] L. W. Geenen *et al.*, "The prognostic value of soluble ST2 in adults with pulmonary hypertension," *J. Clin. Med.*, 2019, doi: 10.3390/jcm8101517.
- [79] M. Griffiths *et al.*, "Correction: Endostatin and ST2 are predictors of pulmonary hypertension disease course in infants," *J. Perinatol.*, 2020, doi: 10.1038/s41372-020-0700-7.

- [80] A. B. Moreno-Castaño *et al.*, “Early vascular endothelial complications after hematopoietic cell transplantation: Role of the endotheliopathy in biomarkers and target therapies development,” *Front. Immunol.*, vol. 13, p. 1050994, 2022, doi: 10.3389/fimmu.2022.1050994.
- [81] J. F. P. Wagenaar *et al.*, “Soluble ST2 levels are associated with bleeding in patients with severe Leptospirosis,” *PLoS Negl. Trop. Dis.*, vol. 3, no. 6, p. e453, Jun. 2009, doi: 10.1371/journal.pntd.0000453.
- [82] I. Marafini *et al.*, “Serum regenerating islet-derived 3-alpha is a biomarker of mucosal enteropathies,” *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2014, doi: 10.1111/apt.12920.
- [83] M. E. D. Flowers *et al.*, “Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria,” *Blood*, 2011, doi: 10.1182/blood-2010-08-302109.
- [84] P. Friedrich, P. Guerra-García, A. Stetson, C. Duncan, and L. Lehmann, “Young Female Donors Do Not Increase the Risk of Graft-versus-Host Disease or Impact Overall Outcomes in Pediatric HLA-Matched Sibling Hematopoietic Stem Cell Transplantation,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2018, doi: 10.1016/j.bbmt.2017.09.014.
- [85] N. Cantoni *et al.*, “Evidence for a bidirectional relationship between cytomegalovirus replication and acute graft-versus-host disease,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2010, doi: 10.1016/j.bbmt.2010.03.020.
- [86] L. R. Wang, L. J. Dong, M. J. Zhang, and D. P. Lu, “Correlations of human herpesvirus 6B and CMV infection with acute GVHD in recipients of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation,” *Bone Marrow Transplant.*, 2008, doi: 10.1038/bmt.2008.238.

8. DOROBK NAUKOWY DOKTORANTA

Raport wygenerowany dnia 28-01-2023

Ilek. Izabella Miśkiewicz-Migoń

*Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej
Wydział Lekarski*

ORCID: 0000-0003-2666-0544

Parametry raportu określone na formularzu kreatora raportu:

Lata od: 2018
Lata do: 2023
Cytowania: -
Punktacja: całkowita (bez podziału)
Poziom raportu: Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej (LWLEK/KHEMP)
Pomijaj dorobek nieafiliowany przy Instytucji: nie
Najczęściej cytowane publikacje: tak
Legenda: tak

Raport dorobku, za okres 2018 - 2023

nb - Punktacja całkowita bezwzględna (bez podziału i bez względu na poziom raportu)

n - Punktacja: całkowita (bez podziału) na poziomie: *Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej* ; dla jednostki parametryzacji: *Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu*

Σ IF* 15,787

*wartość powyższych parametrów bibliometrycznych dotyczy publikacji objętych sprawozdaniem

Dorobek	liczba	nb	n
Publikacje	13	660	660
Artykuły z listy A (do roku 2018)	6	250	250
Artykuły z listy B (do roku 2018)	2	200	200
Artykuły z aktualnego wykazu (od roku 2019)	2	210	210
Rozdziały z monografii	3		

Publikacje

nb n IF

2022

Artykuły z czasopism

Miśkiewicz-Bujna Justyna, Miśkiewicz-Migoń Izabella, Szmít Zofia [i in.] : Short- and long-term outcome of allogeneic stem cell transplantation in infants: a single-center experience over 20 years, 70 70 3.569
Frontiers in Pediatrics, 2022, vol. 10, art.956108 [10 s.]. DOI:10.3389/fped.2022.956108

1 / 3

Rosa Monika, Jarmoliński Tomasz, Miśkiewicz-Migoń Izabella [i in.] : Vedolizumab in highly resistant acute gastrointestinal graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: a single-center pediatric series [research letter], *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 2022, vol. 31, nr 3, s. 345-350. DOI:10.17219/acem/146321 70 70 1,736

2021

Artykuły z czasopism

Miśkiewicz-Bujna Justyna, Miśkiewicz-Migoń Izabella, Rosa Monika [i in.] : Defibrotide in preventing veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation in children with osteopetrosis, *Acta Haematologica Polonica*, 2021, vol. 52, nr 2, s.140-141. DOI:10.5603/AHP.2021.0022 100 100 —

Miśkiewicz-Migoń Izabella, Miśkiewicz-Bujna Justyna, Mielcarek-Siedziuk Monika [i in.] : First hematopoietic stem cell transplantation in a child with late infantile Krabbe disease in Poland, *Pediatrics Polska*, 2021, vol. 96, nr 1, s.67-70. DOI:10.5114/polp.2021.104831 100 100 —

Abstrakt (praca oryginalna opublikowana w streszczeniach)

Szmit Zofia, Gorczyńska Ewa, Frączkiewicz Jowita [i in.] : Anicteric presentation of severe hepatic veno-occlusive disease (VOD) with multiorgan dysfunction (MOD) - a pediatric case report, *Bone Marrow Transplantation*, 2021, vol. 56, nr suppl.1, s.306-307 poz.P149 — — —

List (do redakcji czasopism)

Miśkiewicz-Bujna Justyna, Miśkiewicz-Migoń Izabella, Panasiuk Anna [i in.] : Severe and fatal toxicity after hematopoietic stem cell transplantation in GNE defect-associated thrombocytopenia [letter to the editor], *Bone Marrow Transplantation*, 2021, vol. 56, nr 7, s.1714-1716. DOI:10.1038/s41409-021-01235-8 140 140 5,174

2020

Artykuły z czasopism

Miśkiewicz-Migoń Izabella, Miśkiewicz-Bujna Justyna, Rosa Monika [i in.] : Severe, reversible acute lung injury during autologous hematopoietic stem cell mobilization after filgrastim in a child with neuroblastoma: a case report, *Transplantation Proceedings*, 2020, vol. 52, nr 9, s.2849-2853. DOI: 10.1016/j.transproceed.2020.06.027 40 40 1,066

Musiał Kinga, Augustynowicz Monika, Miśkiewicz-Migoń Izabella [i in.] : Clusterin as a new marker of kidney injury in children undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation - a pilot study, *Journal of Clinical Medicine*, 2020, vol. 9, nr 8, art.2599 [11 s.]. DOI:10.3390/jcm9082599 140 140 4,242

Abstrakt (praca oryginalna opublikowana w streszczeniach)

Szmit Zofia, Król Anna, Kałwak Krzysztof [i in.] : Outcome of relapsed acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents post allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, *Bone Marrow Transplantation*, 2020, vol. 55, nr suppl.1, s.419 poz.P314 — — —

Rozdziały z monografii

Abstrakt (praca oryginalna opublikowana w streszczeniach)

Augustynowicz Monika, Miśkiewicz-Migoń Izabella, Kałwak Krzysztof [i in.] : Wczesna ocena funkcji cewek nerkowych u dzieci poddawanych przeszczepieniu hematopoetycznych komórek macierzystych, W: XVIII Konferencja Polskiego Towarzystwa Nefrologii Dziecięcej. 12-14 XI 2020, on-line. Program, streszczenia, 2020, [b.m.], s.[37] poz.1 — — —

2019

Artykuły z czasopism

Abstrakt (praca oryginalna opublikowana w streszczeniach)

Miskiewicz-Bujna Justyna, Szmit Zofia, Frączkiewicz Jowita *[i in.]*: Incidence and general outcome of allogeneic stem cells transplantation in infants, Bone Marrow Transplantation, 2019, vol. 54, nr suppl.1, s.282 poz.P210. DOI:10.1038/s41409-019-0559-4

2018

Rozdziały z monografii

Abstrakt (praca oryginalna opublikowana w streszczeniach)

Markiewicz Kamila, Miskiewicz Izabella, Żukrowska Marta *[i in.]*: Can quick CRP test be helpful with lowering antibiotics therapy frequency in cases of acute respiratory tract infections in children?, W: 14th International Conference Advances in Pneumology. Opole, Poland, October 12-13, 2018 [online], 2018, s.poz.ab656_1.pdf

Miskiewicz Izabella: Trudna walka z chorobą Krabbego - opis przypadku, W: Interdyscyplinarność przyszłości nauki. Zieloniec, 10-12 listopada 2018. Księga abstraktów, 2018, s.35

Objaśnienia nagłówków w tabelach

pkt - Liczba punktów

GS - Liczba cytowań wg Google Scholar

WoS - Liczba cytowań wg Web of Science

IF - Impact Factor

9. ZGODA KOMISJI BIOETYCZNEJ

KOMISJA BIOETYCZNA
przy
Uniwersytecie Medycznym
we Wrocławiu
ul. Pasteura 1; 50-367 WROCLAW

OPINIA KOMISJI BIOETYCZNEJ Nr KB – 192/2020

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu, powołana zarządzeniem Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu nr 133/XV R/2017 z dnia 21 grudnia 2017 r. oraz działająca w trybie przewidzianym rozporządzeniem Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. (Dz.U. nr 47, poz. 480) na podstawie ustawy o zawodzie lekarza z dnia 5 grudnia 1996 r. (Dz.U. nr 28 z 1997 r. poz. 152 z późniejszymi zmianami) w składzie:

prof. dr hab. Jacek Daroszewski (choroby wewnętrzne, endokrynologia, diabetologia)
prof. dr hab. Krzysztof Grabowski (chirurgia)
dr Henryk Kaczkowski (chirurgia szczękowa, chirurgia stomatologiczna)
mgr Irena Knabel-Krzyszowska (farmacja)
prof. dr hab. Jerzy Liebhart (choroby wewnętrzne, alergologia)
ks. dr hab. Piotr Mrzygłód, prof. nadzw. (duchowny)
mgr Luiza Müller (prawo)
dr hab. Sławomir Sidorowicz (psychiatria)
prof. dr hab. Leszek Szenborn, (pediatria, choroby zakaźne)
Danuta Tarkowska (pielęgniarstwo)
prof. dr hab. Anna Wiela-Hojeńska (farmakologia kliniczna)
dr hab. Andrzej Wojnar, prof. nadzw. (histopatologia, dermatologia) przedstawiciel
Dolnośląskiej Izby Lekarskiej)
dr hab. Jacek Zieliński (filozofia)

pod przewodnictwem
prof. dr hab. Jana Kornafela (ginekologia i położnictwo, onkologia)

Przestrzegając w działalności zasad Good Clinical Practice oraz zasad Deklaracji Helsińskiej,
po zapoznaniu się z projektem badawczym pt.

„ST2 i REG3alfa jako markery ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi u dzieci
poddanych procedurze allogenicznego przeszczepienia komórek hematopoetycznych”

zgłoszonym przez **lek. Izabellę Miśkiewicz-Migoń** rezydenta w Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego im. Jana Mikulicza-Radeckiego we Wrocławiu oraz złożonymi wraz z wnioskiem dokumentami, w tajnym głosowaniu postanowiła wyrazić zgodę na przeprowadzenie badania w Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego im. Jana Mikulicza-Radeckiego we Wrocławiu pod nadzorem prof. dr hab. Krzysztofa Kałwaka **pod warunkiem zachowania anonimowości uzyskanych danych.**

Pouczenie: W ciągu 14 dni od otrzymania decyzji wnioskodawcy przysługuje prawo odwołania do Komisji Odwoławczej za pośrednictwem Komisji Bioetycznej UM we Wrocławiu

Opinia powyższa dotyczy: projektu badawczego będącego podstawą rozprawy doktorskiej

Wrocław, dnia 8 kwietnia 2010 r.

BW

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KOMISJA BIOETYCZNA
przewodzący
prof. dr hab. Jan Kornafel