



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej

Jowita Frączkiewicz

**Analiza przeładowania ustroju żelazem u pacjentów
poddanych transplantacji allogenicznych komórek
krwiotwórczych**

Rozprawa doktorska

Promotor

Dr hab. n. med. Ewa Gorczyńska, prof. nadzw.

Promotor pomocniczy

Dr n. med. Christopher Kobierzycki

Wrocław 2020

Najserdeczniejsze podziękowania pragnę złożyć

*Mojemu Promotorowi, dr hab. n. med. Ewie Gorczyńskiej, prof. nadzw.
za wszechstronną opieką naukową i cenne wskazówki merytoryczne,
cierpliwość i okazaną mi życzliwość*

*Promotorowi pomocniczemu,
dr n. med. Christopherowi Kobierzyckiemu
za nieocenioną, twórczą i przyjacielską pomoc w powstaniu niniejszej
pracy*

*Prof. dr hab. n. med. Agnieszce Haloń
mojemu Nauczycielowi, Przyjacielowi, Mistrzowi
za szczerą i motywującą dyskusję*

*Pracownikom Kliniki Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii
Dziecięcej we Wrocławiu oraz dr n. med. Dominice Kulej – Klimczak
za cenne wskazówki praktyczne i merytoryczne*

*a także
moim Rodzicom, Siostrze i Przyjaciółom,
szczególnie Agacie, Agnieszce, Helenie, Bartkowi i Rodzinie Reinhardt*

SPIS TREŚCI

Wykaz stosowanych skrótów	5
1. Wstęp	8
1.1. Wprowadzenie	8
1.2. Rola i dystrybucja żelaza w ustroju	9
1.2.1. Wchłanianie i transportowanie żelaza	9
1.2.2. Magazynowanie i reutilizacja żelaza	11
1.2.3. Regulacja gospodarki żelazem	13
1.2.4. Udział żelaza w procesach metabolicznych i immunologicznych	14
1.3. Stany przeładowania organizmu żelazem (IOL, iron overload)	15
1.3.1. Wrodzone defekty homeostazy żelaza	16
1.3.2. Potransfuzyjne przeciążenie ustroju żelazem	20
1.3.3. Konsekwencje kliniczne przeładowania organizmu żelazem w wyniku transfuzji KKCz	21
1.4. Diagnostyka nadmiaru żelaza w organizmie	23
1.4.1. Laboratoryjne metody oceny IOL	23
1.4.2. Biopsja narządowa	25
1.4.3. Badania obrazowe w ocenie IOL	26
1.5. Terapia chelatująca żelazo	27
1.6. Przeszczepienie allogenicznych komórek krwiotwórczych szpiku kostnego w populacji pediatrycznej	34
1.7. Zaburzenia gospodarki żelazem u pacjentów poddanych allo-HSCT ...	37
2. Założenia i cel pracy	39
3. Materiały i metody	40
3.1. Materiał badawczy	40
3.2. Metody badawcze	46
3.3. Analiza statystyczna	48
4. Wyniki	49
4.1. Parametry laboratoryjne gospodarki żelazem	49
4.1.1. Stężenia ferrytyny w okresie przed i poprzyszczepowym	49

4.1.2. Parametry laboratoryjne gospodarki żelazem przy stwierdzeniu IOL	52
4.1.3. Parametry laboratoryjne gospodarki żelazem – dynamika zmian stężeń ferrytyny	54
4.1.4. Parametry laboratoryjne gospodarki żelazem w momencie zakończenia obserwacji	57
4.2. Analiza ilości przetoczonych KKCz i jej wpływ na parametry gospodarki żelazem	60
4.3. Czynniki wpływające na stężenie ferrytyny w czasie obserwacji	64
4.4. Badania obrazowe w diagnostyce IOL	65
4.5. Analiza terapii deferyzyroksem w pacjentów grupy DFX	67
5. Dyskusja	73
6. Wnioski	90
7. Streszczenie	91
8. Summary	93
9. Wykaz rycin i tabel	95
10. Piśmiennictwo	98

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

AD	Autosomal Dominant, autosomalny dominujący
aGvHD	acute graft versus Host Disease, choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi
ALL	Acute Lymphoblastic Leukemia, ostra białaczka limfoblastyczna
Allo-HSCT	Allo-Haematopoietic Stem Cell Transplantation, allo-transplantacja komórek krwiotwórczych
AML	Acute Myeloblastic Leukemia, ostra białaczka mieloblastyczna
apoTF-TFR	związek apotransferyny z jej receptorem
AR	Autosomal Recessive, autosomalny recesywny
ARFI	Acoustic Radiation Force Impulse, elastografia mocy promieniowania akustycznego
ASH	
Auto-HSCT	Auto- Haematopoietic Stem Cell Transplantation, auto-transplantacja komórek krwiotwórczych
BM	Bone Marrow, szpik kostny
CB	Cord Blood, krew pępowinowa
CD	Cluster of Differentiation, kompleks różnicowania
cGvHD	chronic Graft versus Host, przewlekła choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi
CHPL	Charakterystyka produktu leczniczego
CML	Chronic Myeloid Leukemia, przewlekła białaczka szpikowa
CNS	Central Nervous System, centralny układ nerwowy
CT, TK	Computed Tomography, tomografia komputerowa
CTCAE	Common Terminology Criteria for Adverse Events, skala oceny działań niepożądanych
CTRL	grupa kontrolna
DFX	grupa badana deferazyroks
DAH	Diffuse Alveolar Hemorrhage, krwawienie rozsiane dopełcherzykowe
DcytB	dwunastniczy cytochrom B
DFO	Deferoksamina
DFX	Deferazyroks
DMT1	Divalent Metal Transporter 1, transporter metali dwuwartościowych
EBMT	European Bone Marrow Transplantation, Europejskie Towarzystwo ds. Transplantacji Szpiku Kostnego
EFS	Event Free Survival, czas przeżycia wolny od zdarzeń
EMA	European Medicines Agency, Europejska Agencja Leków
Fe	Ferrum, żelazo
GH	Growth Hormone, hormon wzrostu

GvL	Graft versus Leukemia, przeszczep przeciwko białaczce
HAMP	Hepcidin Antimicrobial Peptide, gen hepcydyny
HFE	High Fe Human Hemochromatosis protein/gen, białko/gen
HJV	Hemojuwelina
HLA	Human Leukocyte Antigen, zgodność antygenowa
HSCT	Hematopoietic Stem Cell Transplantation, transplantacja komórek krwiotwórczych
IA	Invasive Aspergillosis, inwazyjna aspergiloza
IFI	Invasive Fungal Infection, inwazyjna choroba grzybicza
IOL	Iron Overload, przeładowanie organizmu żelazem
IRE	Iron Responsive Element, niekodujące sekwencje IRP
IRP 1 i 2	Iron Regulatory Protein, białko regulujące żelazo
KKCz	koncentrat krwinek czerwonych
LIC	Liver Iron Concentration, zawartość żelaza w wątrobie
LIP	Labile Iron Pool, zmienna pula jonów żelaza
LPI	Labile Plasma Iron, labilna pula żelaza
MFD	Match Familial Donor, zgodny dawca rodzinny
mg/g sm.	milligram (żelaza) na gram suchej masy tkanki
MOF	Multiorgan Failure, niewydolność wielonarządowa
MRI	Magnetic Resonance Imaging, rezonans magnetyczny
MRS	Magnetic Resonance Spectroscopy, spektroskopia rezonansu magnetycznego
MUD	Match Unrelated Donor, dawca niespokrewniony
NCCN	National Comprehensive Cancer Network, amerykański sojusz ośrodków onkologicznych
NHL	Non-Hodgkin Lymphoma, chłoniak nieziraniczy
NTBI	Non Transferrin Bound Iron, frakcja niezwiązana z transferyną
OS	Overall Survival, całkowite przeżycie
PB	Peripheral Blood, krew obwodowa
PDWP	Pediatric Diseases Working Party, pediatryczna grupa robocza
RA	Refractory Anemia, anemia oporna na leczenie
RARS	Refractory Anemia with Ringed Sideroblasts, anemia oprna ne leczenie z obenością syderoblastów
ROI	Region of Interest, obszar zainteresowania
ROS	Reactive Oxygen Species, reaktywne formy tlenu
SCD	Sickle Cell Disease, anemia sierpowata
SIR	Signal Intensity Ratio, współczynniki intensywności sygnału
SLC25A28	mitoferryna 2
SLC25A37	mitoferryna 1
SLC40A1	aktualna nazwa ferroportyny
STEAP 3	Metaloreduktaza
SWE	Shear Wave Elastography, elastografia fali poprzecznej
TAM	Transplantation Associated Microangiopathy, mikroangiopatia związana z transplantacją
TBI	Total Body Iron, całkowita zawartość żelaza

TE	Transient Elastography, elastografia dynamiczna
TF	Transferyna
TFR 1 i 2	receptor błonowy dla transferyny
TIBC	Total Iron Binding capacity, całkowita zdolność wiązania żelaza
TIS	Total Iron Score, całkowity wskaźnik zawartości żelaza
TLR	Toll Like Receptor, receptor toll podobny
TRM	Treatment Related Mortality, śmiertelność związana z leczeniem
UIBC	Unsaturated Iron Binding Capacity, utajona zdolność wiązania żelaza
VIC	Virtual Iron Content, wirtualna zawartość żelaza
VOD-SOS	Venoocclusive Disease-Sinusoidal Obstruction Syndrome, choroba wenookluzyjna wątroby

1. WSTĘP

1.1. Wprowadzenie

Żelazo jest szeroko rozpowszechnionym, kluczowym metabolicznie i niezbędnym do życia mikroelementem. Jedynymi znanymi organizmami, które do swojego funkcjonowania nie wymagają jego udziału, są bakterie z rodzaju *Lactobacillus*. Żelazo, posiadając unikalną zdolność wymiany elektronów, uczestniczy w różnorodnych procesach metabolicznych. Jako kofaktor hemowy hemoglobiny transportuje i dostarcza komórkom tlen, jako składnik enzymów uczestniczy w syntezie kwasu dezoksyrybonukleinowego, niektórych hormonów, kolagenu czy związków bogatoenergetycznych. Bierze też udział w procesach detoksykacyjnych i reakcjach odpornościowych [1][2]. Z uwagi jednak na potencjał oksydoredukcyjny jego nadmiar może prowadzić do uszkodzenia tkanek. W organizmie człowieka wyspecjalizowane białka ściśle regulują i kontrolują mechanizmy wychwytu, transportu, przechowywania i eksportu żelaza w celu zapewnienia odpowiedniej homeostazy i ograniczenia jego toksycznego działania [3].

Całkowita zawartość żelaza (TBI, total body iron) w ustroju dorosłego człowieka szacowana jest na 3-4 g; średnio 40 mg/kg m.c. u kobiet i 50 mg/kg m.c. u mężczyzn [4]. Z tej puli większość zasobów, bo 65-75% jest zawarta w hemoglobinie krwinek czerwonych i jest poddawana recyklingowi w procesie erytrofagocytozy [3]. Pozostała niewielka ilość znajduje się w mioglobinie oraz enzymach tkankowych, które zawierają jako grupę prostetyczną hem lub flawinę [5]. Około 20-30% żelaza deponowane jest w makrofagach układu siateczkowo-śródbłonkowego oraz w hepatocytach, co stanowi pulę zapasową ustroju. Zaledwie 0,1% TBI znajduje się w krwiobiegu, gdzie w połączeniu z odpowiednimi białkami żelazo rozprowadzane jest do tkanek ustroju (Tabela 1) [1].

Tabela 1.
Rozmieszczenie tkankowe żelaza w organizmie człowieka. Wg [3][4] w modyfikacji własnej

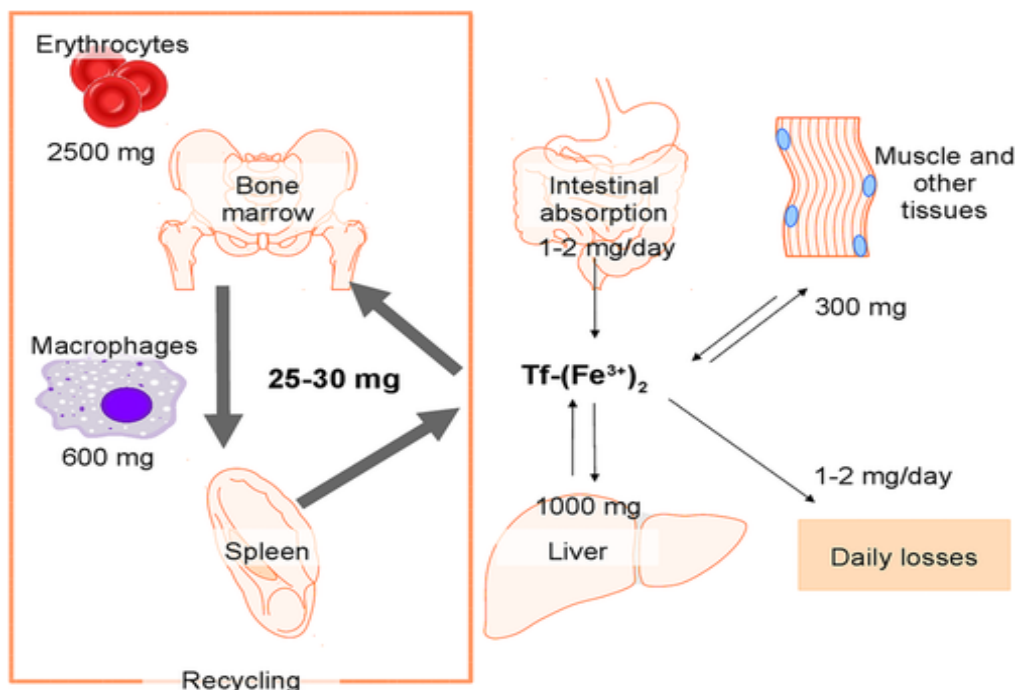
	Rozmieszczenie tkankowe żelaza	Białko zawierające żelazo	Zawartość żelaza [mg]	Zawartość żelaza [%]
1	Eryocyty	Hemoglobina	1500-2500	65-75
2	Hepatocyty i makrofagi	Ferrytyna	200-1200	20-30
3	Osocze	Transferyna	3-4	0,1
4	Inne tkanki	Mioglobina i enzymy tkankowe	200	10

1.2. Rola i dystrybucja żelaza w ustroju

1.2.1. Wchłanianie i transportowanie żelaza

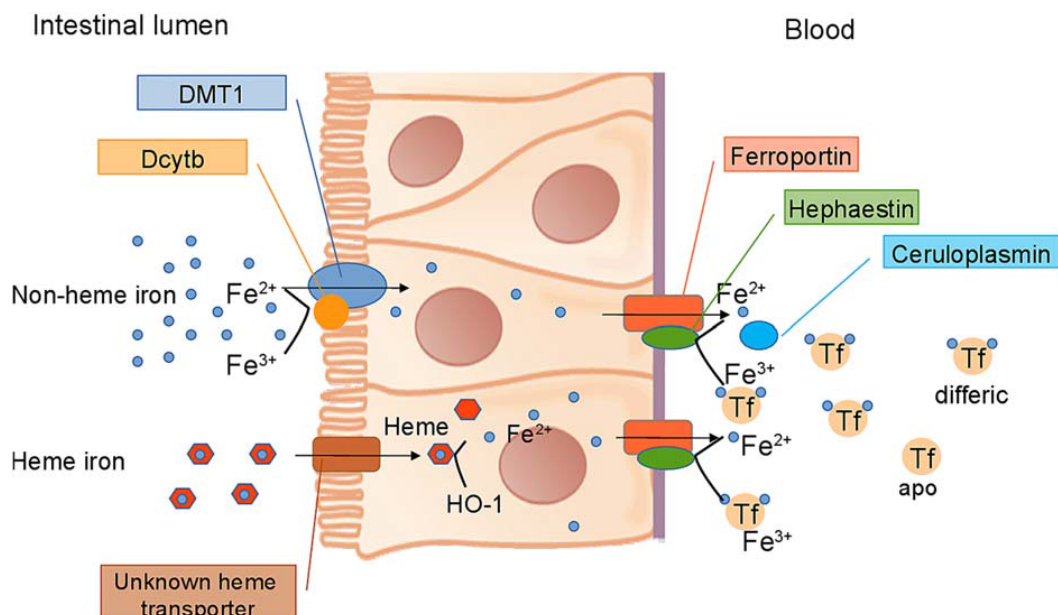
Prawidłowo zbilansowana dieta dostarcza organizmowi dziennie 15 mg żelaza, z czego jedynie 10% ulega absorpcji w świetle jelita. Źródłem są przede wszystkim produkty pochodzenia zwierzęcego, gdyż w przeciwieństwie do związków roślinnych żelazo hemowe charakteryzuje większa biodostępność [6][7]. Wchłanianie żelaza zwiększa się w czasie intensywnego wzrostu i rozwoju, u kobiet ciężarnych i przed menopauzą. Zwiększa się także w stanie niedotlenienia tkanek, intensywnej erythropoezy czy niedoboru żelaza w ustroju [5]. Proces absorpcji żelaza podlega rygorystycznej regulacji, co z jednej strony zaspokaja zapotrzebowanie organizmu na ten pierwiastek, z drugiej ogranicza jego nadmierne gromadzenie [8].

Dobowo około 1-2 mg żelaza jest usuwane z ustroju w wyniku złuszczenia nabłonka jelitowego, miesiączkowania u kobiet czy incydentalnych krwawień z błon śluzowych [9]. Organizm ludzki nie posiada fizjologicznego szlaku uwalniania tego pierwiastka, ale charakterystyczną cechą jest zdolność do ponownego wykorzystania żelaza ze starych i rozpadających się erytrocytów w wyniku fagocytozy makrofagów [8].



Rycina 1.
Dystrybucja żelaza w organizmie człowieka w warunkach prawidłowych; wg [2]

Wchłanianie żelaza odbywa się w enterocytach jelita cienkiego na rąbku szczoteczkowym i zależy od aktywnej funkcji transportera metali dwuwartościowych (DMT1, divalent metal transporter 1). W proksymalnej części jelita DMT1 charakteryzuje się najwyższą ekspresją i aktywnością, co zwiększa się w stanach niedoboru żelaza, a zmniejsza w stanach przeciążenia i w ten sposób modulowane jest wchłanianie przez enterocyty [10]. Dostarczane w diecie żelazo występuje w formie jonu trójwartościowego $[Fe^{3+}]$, a w świetle jelita wymagana jest jego redukcja do postaci $[Fe^{2+}]$ z udziałem feroreduktazy (DcytB). Dwuwartościowe żelazo, w obecności jonów wodorowych napływających do dwunastnicy z żołądka, transportowane jest do wnętrza enterocyta. O funkcji protonów $[H^+]$ w transporcie żelaza świadczy gorsze wchłanianie w trakcie terapii blokerami receptora H2 i inhibitorami pompy protonowej [11]. Po przedostaniu się do wnętrza nabłonka jelitowego, część żelaza pozostaje w komórce, wiążąc się z ferrytyną po uprzednim utlenowaniu do jonu $[Fe^{3+}]$. Ta pula następnie jest tracona, gdy enterocyt ulega złuszczeniu do światła jelita. Pozostała część zostaje uwolniona do osocza przez przeciwluminalną błonę komórkową z udziałem białka transbłonowego ferroportyny (obecnie zwanej *SLC40A1*). W krwiobiegu oksydaza żelazowa - hefajstyna powoduje utlenowanie żelaza do $[Fe^{3+}]$, by następnie związać je z prekursorem białka transportowego apotransferyną [11][12]. Schematycznie wchłanianie żelaza zostało przedstawione na rycinie 2.



Rycina 2.
Mechanizm wchłaniania żelaza przez ścianę jelita; [2]

Cząsteczka transferyny wiąże w sposób odwracalny dwa jony żelaza $[Fe^{3+}]$ i transportuje je do komórek szpiku kostnego czy makrofagów układu siateczkowo-śródbłonkowego. Przez swoisty receptor błonowy – TFR1 i TFR2 związek żelaza z transferyną ulega internalizacji z błoną komórkową, a następnie na drodze endocytozy przenoszony jest do wnętrza komórki [10]. Z uwagi na kwaśne środowisko endosomu (pH – 5,6) dochodzi do dysocjacji kompleksu i uwolnienia żelaza z adduktu, które to następnie jest redukowane przez metaloreduktazę (*STEAP3*) i eksportowane przez kanał transportera metali dwuwartościowych DMT1 do cytoplazmy. Nienaruszony związek apoTF – TFR kierowany jest na błonę komórkową, po czym apotransferyna wraca do krwioobiegu i ponownie przyłącza kolejne jony Fe, co jest określane mianem cyklu transferynowego [5][13]. Jak wspomniano, zaledwie 0,1% zasobów ustrojowych żelaza znajduje się w osoczu, ale w ciągu doby transferyna przenosi około 25 mg żelaza głównie do szpiku kostnego, gdzie jest wykorzystywane do syntezy hemoglobiny w komórkach prekursorowych układu czerwonokrwinkowego [5]

1.2.2. Magazynowanie i reutilizacja żelaza

Wewnątrz komórki w cytoplazmie jony żelaza gromadzone są w połączeniu z ferrytyną. Jej prekursorem jest apoferrytyna, która może wiązać do około 4500 atomów żelaza, co stanowi ogólną pulę zapasową. Zasoby te w stanie zwiększonego zapotrzebowania mogą zostać szybko uruchomione. Ferrytyna znajduje się przede wszystkim w szpiku kostnym, wątrobie i śledzionie. W surowicy jej ilość jest śladowa, ale proporcjonalna do tej zmagazynowanej wewnątrzkomórkowo. Stężenie ferrytyny w surowicy faktycznie odzwierciedla zmagazynowane żelazo i dlatego też jest wykorzystywane w praktyce klinicznej do oceny gospodarki żelazem [5]. Należy podkreślić, że ferrytyna jako białko ostrej fazy jest stymulowana przez infekcje i jej synteza znacznie wzrasta w stanie zapalnym organizmu [1].

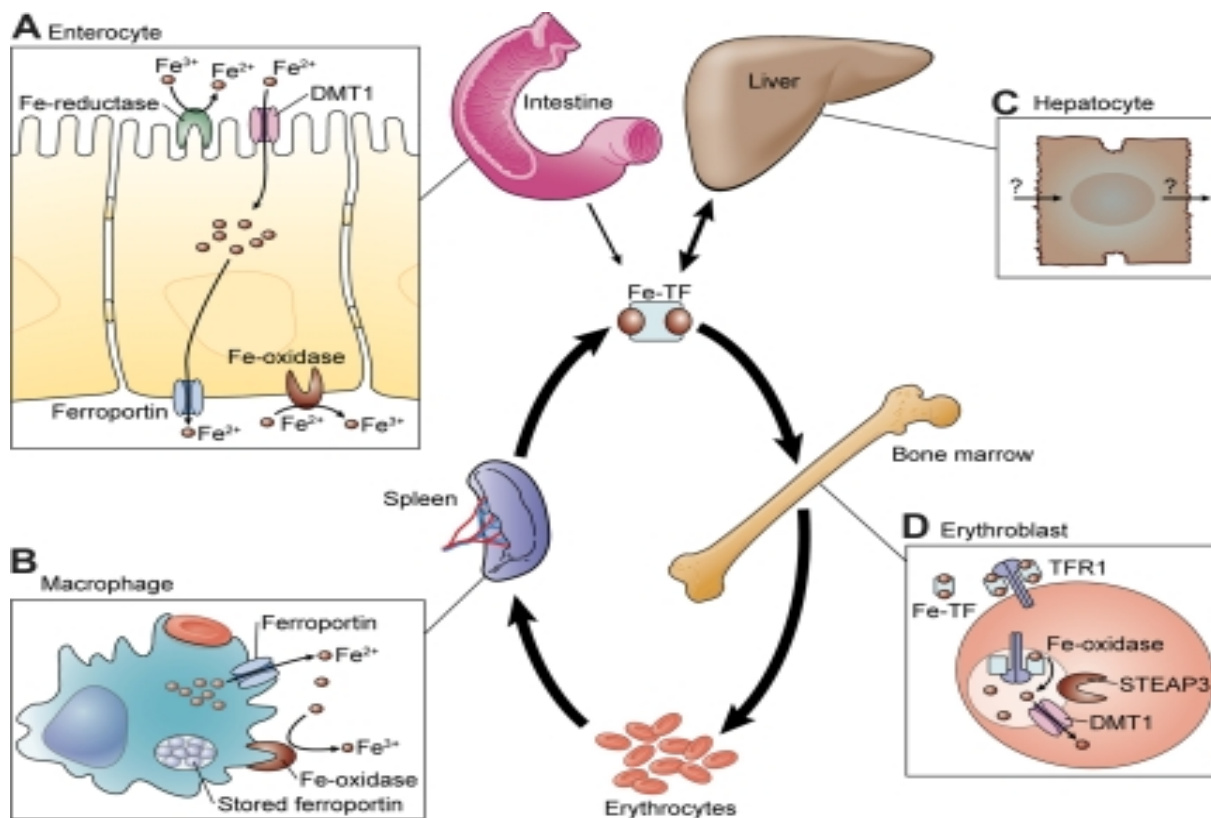
Żelazo może być również gromadzone w postaci hemosyderyny, która prawdopodobnie jest produktem degradacji ferrytyny [14]. Zasadniczo w hemosyderynie zawartość żelaza jest większa, ale jego uwalnianie znacznie trudniejsze niż z ferrytyny – jest to tzw. pula nieaktywna żelaza.

Jedynym znanym eksporterem żelaza z komórki jest ferroportyna obecna wszędzie tam, gdzie żelazo przedostaje się do osocza, tj. na błonie podstawno-bocznej enterocytów, błonie makrofagów, sinusoidalnej powierzchni hepatocytów i w łożyskowych komórkach syncytiotrofoblastu. Transport żelaza z komórki odbywa się przy udziale

oksydaz: wspomnianej powyżej hefajstyny w obrębie nabłonka jelitowego, cykloпенu w komórkach łożyskach i ceruloplazminy o największej ekspresji w wątrobie [1].

Za reutilizację żelaza odpowiedzialne są przede wszystkim makrofagi układu siateczkowo-śródbłonkowego szpiku kostnego, wątroby i śledziony. Dzięki zdolności do fagocytozy pozyskują one żelazo z rozpadu starych i uszkodzonych erytrocytów, między innymi poprzez receptor powierzchniowy CD 163 [15]. W warunkach fizjologicznych około 90% hemoglobiny usuwane jest w procesie erytrofagocytozy, natomiast ok. 10% w kompleksie z haptoglobiną, która odpowiedzialna jest za nieodwracalny jej wychwyty. Usuwanie hemoglobiny w kompleksie z haptoglobiną wielokrotnie wzrasta w przypadku przyspieszonej hemolizy wewnątrznaczyniowej, np. w przebiegu infekcji czy chorób autoimmunologicznych [16].

Część białkowa hemoglobiny ulega rozpadowi do wolnych aminokwasów, natomiast uwolnione żelazo przechodzi do tzw. puli ogólnej. Z uwolnionego hemu powstaje tlenek węgla i biliwerdyna, która ulega następnej redukcji do bilirubiny. Ta zaś przenika do krwi, gdzie łączy się z albuminami osocza i w postaci bilirubiny pośredniej przedostaje się do wątroby. Kompleks ulega rozpadowi i bilirubina sprzęgana jest między innymi z glukuronianem i tworzy bilirubinę bezpośrednią, która jest wydalana z żółcią do światła jelita. Kolejno, pod wpływem enzymów bakteryjnych, uwalniany jest glukuronian, a bilirubina redukowana do urobilinogenu. Częściowo urobilinogen jest utleniany przez bakterie jelitowe do sterkobiliny i wydalany z kałem, natomiast część jest zwrotnie wchłaniana z jelit i przedostaje się do nerek, gdzie jest wydalana z moczem, a na powietrzu przekształca się w urobilinę [17]. W wyniku erytrofagocytozy uwolnione żelazo przedostaje się do cytoplazmy makrofaga i tworzy tzw. zmienną pulę jonów żelaza (LIP, labile iron pool). Częściowo jest transportowane w sposób bezpośredni do osocza z udziałem ferroportyny, gdzie ulega utlenowaniu do $[Fe^{3+}]$ przez ceruloplazminę i łączy się z apotransferyną. Pozostała część jest odkładana w cząsteczce w postaci ferrytyny czy hemosyderyny [5][18]. W prekursorach erytrocytów, żelazo za pomocą importerów błonowych, jak mitoferryna (SLC25A37 i SLC25A28), zostaje wbudowane w pierścień protoporfirynowy, tworząc hem lub wiąże się z siarką, co jest niezbędne do powstania grup prostetycznych enzymów łańcucha oddechowego [19]. Obrót żelaza w ustroju człowieka zaprezentowany został na rycinie 3.



Rycina 3.

Obrót żelaza w ustroju; wg [11]

1.2.3. Regulacja gospodarki żelazem

Regulacja gospodarki żelazem w organizmie odbywa się na poziomie jego absorpcji w przewodzie pokarmowym, jego magazynowania, uwalniania z makrofagów układu siateczkowo-śródbłonkowego, a także ponownego wykorzystywania przez erytroblasty [8]. Podstawowym czynnikiem odpowiedzialnym za normalizację tych procesów jest hepcydyna – 25 – aminokwasowy polipeptyd syntezowany w hepatocytach i uwalniany do krwi krążącej. Ekspresję genu hepcydyny stwierdzono także w makrofagach, adipocytach i komórkach cewek nerkowych [9]. Wiązanie hepcydyny z ferroportyną powoduje jej internalizację i ubiquitynację, a następnie lizosomalną degradację, co uniemożliwia przejście żelaza do krwiobiegu [20]. Taka regulacja ma istotne znaczenie w enterocytach, gdzie zablokowanie ferroportyny prowadzi do retencji żelaza w komórce jelita i jego usunięcia z organizmu podczas złuszczenia nabłonkowego. W makrofagach, które są podstawowym źródłem żelaza dla erytropoezy, blokowanie ferroportyny przerywa uwalnianie żelaza uzyskanego w drodze erytrofagocytozy i również obniża jego osoczowe stężenie. Mechanizm odwrotny występuje w przypadku niedoboru hepcydyny, gdy obserwuje się zwiększone wchłanianie jelitowe i wpływ

z makrofagów [9]. Ekspresja hepcydyny jest zależna nie tylko od ogólnoustrojowej gospodarki żelazem, ale również od czynników prozapalnych (zwłaszcza interleukiny 6 i innych cytokin), erytropoetyny czy niedotlenienia. Białkami pośredniczącymi w przenoszeniu sygnału wewnątrzkomórkowego pobudzającymi intensywność jej syntezy są: białko HFE, TF, TRF, białko morfogenetyczne kości czy hemojuwelina. Hepcydyna wydalana jest przez nerki, których zaburzona funkcja i niewydolność może prowadzić do akumulacji tego hormonu, co w efekcie powoduje gromadzenie żelaza w komórkach i jego niedostępność dla właściwej erytropoezy [8][9].

Na wewnątrzkomórkową regulację homeostazy żelaza, która warunkuje prawidłowe funkcjonowanie komórki i jej ochronę przed działaniem niepożądanym wolnego pierwiastka, wpływają dwa cytoplazmatyczne białka IRP 1 i 2 (iron regulatory protein). Białka te posiadają zdolność do wiązania się z TRF czy ferrytyną przez swoiste niekodujące sekwencje mRNA, określane jako IRE – iron responsive element. Wiązanie z końcem 5' mRNA hamuje translację, czyli syntezę białek, jak ferroportyna, a co za tym idzie ucieczkę żelaza z komórki. Wiązanie z końcem 3' stabilizuje łańcuch i chroni go przed endonukleazami, co z kolei powoduje zwiększenie napływu żelaza. Taki mechanizm jest charakterystyczny dla m.in. transportera metali dwuwartościowych DMT1 [7]. Regulacja za pomocą białek IRP skutkuje normalizacją zawartości żelaza na poziomie komórkowym.

1.2.4. Udział żelaza w procesach metabolicznych i immunologicznych

Dzięki właściwościom oksydoredukcyjnym żelaza powstają rodniki hydroksylowe, które komórki układu immunologicznego wykorzystują do uszkodzenia DNA, białek i lipidów patogenów, a w konsekwencji ich śmierci komórkowej [21].

Żelazo, jak zostało wspomniane, gromadzone jest przede wszystkim wewnątrzkomórkowo w hemoglobinie erytrocytów. Niektóre z patogenów rozwinęły mechanizmy uwalniania żelaza poprzez lizę erytrocytów. Konkuruje zatem z gospodarzem, którego sprawny układ immunologiczny aktywuje mechanizmy obniżające jego stężenie w odpowiednim kompartmentcie [7]. Niski poziom żelaza towarzyszący infekcji potęguje produkcję hepcydyny w wątrobie pod wpływem cytokin zapalnych i aktywacji receptorów makrofagów TLR (toll like receptor), co dodatkowo ogranicza jego dostępność patogenom, dla których żelazo jest niezbędnym składnikiem odżywczym [23]. Warto podkreślić, że drobnoustroje, zwłaszcza bakteryjne, w toku ewolucji wytworzyły mechanizmy pozwalające efektywnie współzawodniczyć o dostępność do żelaza przez siderofory czy inne związki

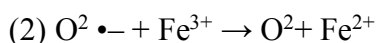
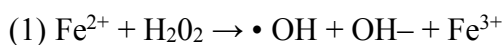
chelatuje żelazo. Z drugiej strony komórki układu immunologicznego organizmu uwalniają lipokalinę 2, która siderofory neutralizuje [7][21].

Niejednoznaczny jest wpływ żelaza na procesy nabytej odpowiedzi immunologicznej. Istnieją doniesienia o obniżeniu liczby limfocytów T czy zaburzeniu stosunku CD4+/CD8+ w przypadku jego niedoboru [7][24]. U chorych, u których występuje przeciążenie żelazem, odnotowuje się zwiększoną podatność na infekcje [21].

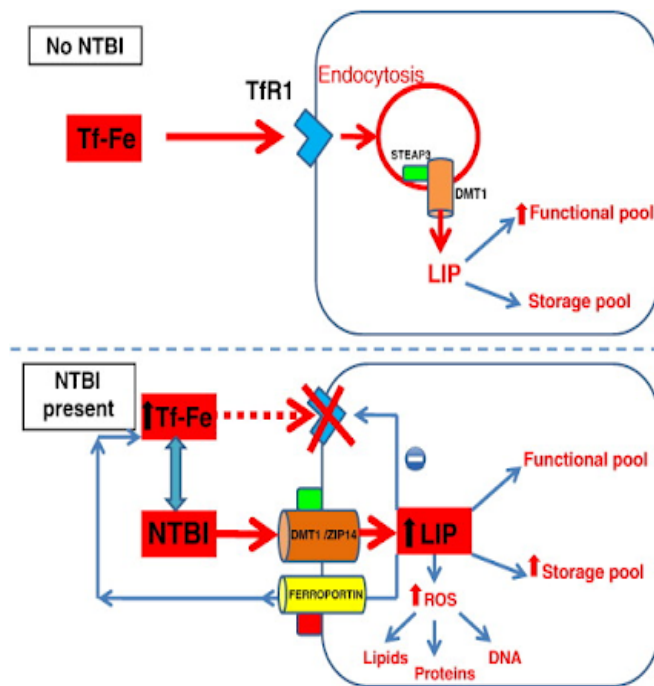
1.3. Stany przeładowania organizmu żelazem

Organizm człowieka nie jest zdolny do usuwania nadmiaru żelaza, co może skutkować przeładowaniem tkanek tym pierwiastkiem (IOL, iron overload). Konsekwencją tego stanu jest uszkodzenie narządów i ich dysfunkcja [25].

Właściwości oksydoredukcyjne żelaza i powstawanie wolnych rodników zostały opisane już w XIX w. przez brytyjskiego chemika Fentona w podwójnej reakcji, która określała silne właściwości utleniające mieszaniny jonu żelaza i H₂O₂ [26][27]:



Niezwiązane z białkami żelazo, wchodząc w reakcję Fentona, nasila stres oksydacyjny, powodując tworzenie silnie toksycznych rodników hydroksylowych OH i lipidów wodoronadtlenkowych ROOH. Ich reakcja z kwasami nukleinowymi skutkuje uszkodzeniem DNA i w efekcie może inicjować proces nowotworowy [5]. W różnych stanach patologicznych związanych z przeciążeniem żelazem powstaje jego frakcja niezwiązana z transferyną (NTBI - non transferrin bound iron), w tym najbardziej toksyczna dla tkanek labilna pula żelaza (LPI - labile plasma iron). W warunkach fizjologicznych pula LPI jest utrzymywana na jak najniższym poziomie, gdyż to właśnie ona jest głównym źródłem żelaza dla reakcji Fentona. Wolna frakcja żelaza jest potencjalnie odpowiedzialna za uszkodzenie narządów, co jest zilustrowane na schematach poniżej. [28].



Rycina 4. Schemat krążenia żelaza w połączeniu z TF oraz frakcji NTBI; wg [28] Kompleks TF-Fe kierowany jest do szpiku kostnego, gdzie bierze udział w erytropoezie, a następnie żelazo jest degradowane w komórkach układu siateczkowo-śródbłonkowego.

W stanie przeładowania powstaje frakcja NTBI, która oddziałuje na komórki wątroby, trzustki, serca, a także przechodzi przez cykl jelitowo-wątrobowy i w efekcie prowadzi do uszkodzenia komórek.

Przyczyny IOL mogą być związane z genetycznie uwarunkowanymi zaburzeniami jego szlaku metabolicznego lub niedokrwistościami wymagającymi przetoczeń koncentratów krwinek czerwonych (KKCz). Najczęściej IOL jest nieuniknioną konsekwencją przewlekłego wspierania terapii choroby nowotworowej transfuzjami KKCz i jest bezpośrednio związane z liczbą otrzymanych jednostek [25].

Przetoczenie KKCz jest realizowane ze wskazań życiowych. Z jednej strony jest postępowaniem ratującym życie, z drugiej powoduje wystąpienie długoterminowych dysfunkcji narządów wynikających z przeładowanych żelazem tkanek [29].

1.3.1. Wrodzone defekty metaboliczne żelaza

Analiza wrodzonych defektów metabolizmu żelaza (primary iron overload) doprowadziła do odkrycia wielu genów, których mutacje zakłócają homeostazę żelaza. Termin „hemochromatoza” został wprowadzony przez von Recklinghausena pod koniec XIX wieku i wówczas odnosił się do manifestacji klinicznej, która wynikała z nadmiaru całkowitej ilości żelaza w organizmie i niewydolności narządów z powodu jego toksyczności. Opisane objawy obejmowały marskość wątroby i zwiększone ryzyko wystąpienia raka wątrobowokomórkowego, cukrzycę, hipogonadyzm, inne endokrynopatie, a także kardiomiopatię, artropatię czy zmianę pigmentacji skóry. Genetyczny charakter w postaci

autosomalnego recesywnego typu dziedziczenia został natomiast rozpoznany i opisany w latach siedemdziesiątych poprzedniego stulecia [30]. Obecnie termin hemochromatoza obejmuje spektrum zaburzeń od prostych biochemicznych, po przewlekłe uszkodzenie, a nawet zagrażające życiu ciężkie kardiomiopatie w młodym wieku.

Istotą choroby jest niekontrolowana absorpcja żelaza z enterocytów, bądź nadmierne jego uwalnianie z makrofagów. U chorych z hemochromatozą wrodzoną codzienne wchłanianie żelaza dochodzi do 10 mg, a magazynowanie osiąga poziom 60 g, co jest wielokrotnie wyższe w porównaniu do populacji osób zdrowych [31].

Hemochromatoza wrodzona jest heterogennym zaburzeniem genetycznym najczęściej występującym wśród rasy białej (1 na 200-250 przypadków) [31]. Szacunkowo dotyczy populacji europejskiej 10-krotnie częściej niż mukowiscydoza. Mimo to jej rozpoznawanie jest wciąż sporadyczne, co wynika prawdopodobnie z niskiej penetracji zmutowanego genu. To z kolei oznacza, że u 38-50% nosicieli obu zmutowanych alleli wystąpi nadmiar żelaza w organizmie, natomiast objawy choroby u jedynie 10-33% homozygot [32].

Badania molekularne nad złożonością szlaku regulacyjnego homeostazy żelaza i wpływu licznych białek regulatorowych głównie w interakcji hepcydyna - ferroportyna poprawiły klasyfikację zaburzeń genetycznych. Przyczyniły się także do zidentyfikowania nowych jednostek chorobowych, które zostały przedstawione w tabeli nr 2 [33].

Hemochromatoza typu I (classic adult type) występuje u ponad 80% chorych i jest spowodowana mutacją genu *HFE*, który koduje białko HFE odpowiedzialne za regulację hepcydyny, czyli głównego hormonu odpowiedzialnego za kontrolę gospodarki żelazem [34]. Szczególnie powszechny jest genotyp C282Y z podstawieniem cysteiny tyrozyną w pozycji 282. W populacji polskiej nosicielstwo mutacji z polimorfizmem C282Y stwierdzono u 7,8%, natomiast u badanych 0,13% stanowiły homozygoty [35]. Wśród wszystkich pacjentów z hemochromatozą wrodzoną mutację C282Y genu *HFE* stwierdzono u ponad 80% homozygot [36]. Objawy kliniczne pojawiają się stosunkowo późno, tzn. w 4-5 dekadzie życia, a u kobiet nawet o około 10 lat później, co może być związane z ochronnym wpływem menstruacji, ciąży i laktacji. Początkowe dolegliwości są niespecyficzne i obejmują zmęczenie, osłabienie czy bóle stawów. Zaawansowana postać może dotyczyć uszkodzenia wielu narządów, a w przypadku wątroby może prowadzić do jej marskości, a także rozwoju raka wątrobowokomórkowego [31].

Tabela 2.

Najczęstsze postaci hemochromatozy wrodzonej; wg [33] w modyfikacji własnej

Podtyp IOL	Gen	Produkt białkowy	Ekspresja tkankowa	Sposób dziedziczenia	Cechy kliniczne	Leczenie krwio- upustami
I	<i>HFE</i>	HFE	Enterocyty	AR	późny początek, objawy niespecyficzne, niewydolność narządowa w 60-70 rż	tak
IIa	<i>HJV</i>	Hemojuwelina	Hepatocyty, kom. mięśni szkieletowych i mięśnia sercowego	AR	wczesny początek Hipogonadyzm Arytmie, niewydolność krążenia i wczesne zgony sercowe	tak
IIb	<i>HAMP</i>	Hepcydyna	Jw.	AR	jw	tak
III	<i>TFR2</i>	TFR 2	Hepatocyty	AR	Różnorodność objawów klinicznych i stopnia ciężkości	tak
IV	<i>SLC40A1</i>	Ferroportyna	Enterocyty, Hepatocyty, Makrofagi	AD	Zaburzenie funkcji wątroby	nie

HFE – High Fe Human Hemochromatosis Protein/Gene, białko/gen hemochromatozy, TFR – transferrin gene/receptore, gen/receptor dla transferyny, SLC40A1 – ferroportyna, HAMP – hepcidin antimicrobial peptide, gen hepcydyny, HJV- hemojuvelin gene, gen dla hemojuweliny, AR – autosomal recessive, autosomalny recesywny, AD – autosomal dominant, autosomalny dominujący

W przeciwieństwie do postaci klasycznej hemochromatozy wrodzonej u pacjentów z młodzieńczym typem (Juvenile hemochromatosis; typ II) objawy przeładowania żelazem o cięższym przebiegu klinicznym jak hipogonadyzm, cukrzyca czy kardiomiopatia, odnotowuje się w okresie wieku dziecięcego [36][37]. Wczesny początek, ogromne obciążenie żelazem oraz przedwczesne zgony z powodu arytmii i niewydolności serca sugerowały, że produkt genowy wywiera hamujący wpływ na wchłanianie żelaza silniejszy niż białko HFE [33]. Pierwszym zidentyfikowanym nieprawidłowym białkiem była nieaktywna hepcydyna – mutacja *HAMP* – typ IIb. Najbardziej powszechną jednak mutacją młodzieńczej hemochromatozy jest zaburzenie genu dla hemojuweliny (*HJV*) – typ IIa. Tak więc ciężki

niedobór hepcydyny, niemal nieoznaczalne jej stężenie w moczu czy wyjątkowo niski poziom oznaczanego RNA w biopsji wątroby są cechą wspólną młodzieńczej postaci hemochromatozy [38].

Hemochromatoza typu III charakteryzuje się mutacją genu kodującego receptor dla *TFR2* i jest często opisywana jako zaburzenie podobne do hemochromatozy HFE. Objawy kliniczne, wzór przechowywania żelaza w wątrobie i odpowiedź na upusty krwi są identyczne w obu patologiach, aczkolwiek dolegliwości i zaburzenie narządowe są bardziej nasilone niż w przypadku HFE-hemochromatozy [33].

Atypowe cechy prezentuje typ IV hemochromatozy. Odmienny jest schemat dziedziczenia, bo autosomalny dominujący z mutacją genu *SLC40A1*, kodującego ferroportynę. Jej domeny znajdują się w obrębie komórek Browicza - Kupffera, na błonie podstawno-bocznej enterocytów, makrofagów, komórek łożyska i hepatocytów, gdzie odgrywają rolę eksportera żelaza. Akumulację żelaza obserwuje się w biopsjach wątroby, a objawy kliniczne wynikają z zaburzenia przez to jej funkcji. U niektórych pacjentów stwierdza się nieprawidłową erytropoezę z niedoborem żelaza, niskie nasycenie transferyny, nawet łagodną niedokrwistość i upośledzoną tolerancję upustów krwi [39]

Wyzwaniem zarówno diagnostycznym, jak i terapeutycznym są rzadkie choroby genetyczne, które prowadzą do przeciążenia organizmu żelazem. Zostały one przedstawione w tabeli nr 3.

Tabela 3.

Rzadko występujące podtypy hemochromatozy wrodzonej; wg [33] w modyfikacji własnej

Podtyp zaburzenia	Dziedziczenie	Gen	Opis zaburzenia	Cechy kliniczne	Leczenie
Hypotransferynemia	AR	<i>TF</i>	Ekstremalnie niski poziom transferyny, hiperabsorpcja jelitowa żelaza	Anemia, cechy IOL	FFP (substytucja transferyny)
Aceruloplazminemia	AR	<i>CP</i>	Brak ceruloplazminy; gromadzenie żelaza w wątrobie, trzustce, siatkówce	Anemia, cukrzyca, zaburzenia neurologiczne, cechy IOL	Brak odpowiedzi na upusty krwi i leczenie chelatujące
Defekt DMT1	AR	<i>SLC11A2</i>	Patomechanizm nieznan	Anemia mikrocytarna hipochromiczna, IOL, zaburzenia neurologiczne	?

Podtyp zaburzenia	Dziedziczenie	Gen	Opis zaburzenia	Cechy kliniczne	Leczenie
Zespół hiperferrytynemia-zaćma	AD	<i>L-ferrytyna (IRE)</i>	Zaburzenie syntezy L-ferrytyny	Zaćma we wczesnym wieku	Upusty krwi
Typ afrykański	?	?	Obecny tylko wśród populacji afrykańskiej, patomechanizm nieznany,	IOL	?
Hemochromatoza noworodków	?	?	Poza wrodzoną postacią, możliwy mechanizm immunologiczny.	Masywne przeładowanie żelazem wątroby z wczesną niewydolnością narządu	Transplantacja wątroby IVIG w ciąży

IOL – iron overload, IRE – iron responsive element – gen dla białka IRP, SLC11A2 – Solute Carrier Family 11 Member 2 – gen kodujący białko NRAM2, DMT1 – divalent metal transporter1, transporter metali dwuwartościowych, AR – autosomal recessive, autosomalny recesywny, AD – autosomal dominant, autosomalny dominujący, FFP – fresh frozen plasma, osocze świeżo mrożone, IVIG – intravenous gammaglobulines, dożylna gammaglobulina

Warto w tym miejscu podkreślić, że w dalszym ciągu w większości przypadków, poza podtypami opisanymi w tabeli powyżej, leczenie pierwotnej hemochromatozy ograniczone jest do krwiopustów, a alternatywne preparaty chelatujące żelazo nie mają jednoznacznie potwierdzonej skuteczności terapeutycznej [40].

1.3.2. Potransfuzyjne przeciążenie ustroju żelazem

Przeładowanie organizmu żelazem najczęściej spowodowane jest licznymi transfuzjami koncentratów krwinek czerwonych z powodu przewlekłych wrodzonych lub nabytych niedokrwistości. W populacji pediatrycznej są to anemie syderoblastyczne, dyserytropoetyczne, hemolityczne, aplastyczne czy zespoły mielodysplastyczne (MDS). Częstych przetoczeń KKCz wymagają pacjenci w trakcie leczenia przeciwnowotworowego, a szczególną grupą są chorzy po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych szpiku kostnego [29]. Kumulacja różnych czynników, takich jak: mieloablacyjne kondycjonowanie, infekcje, hemoliza czy mielosupresyjne działanie leków stosowanych w profilaktyce i leczeniu powikłań potransplantacyjnych u niemal każdego pacjenta jest przyczyną wielokrotnych transfuzji KKCz realizowanych niejednokrotnie w krótkim czasie.

Każdy mililitr w jednostce koncentratu czerwonekrwinkowego zawiera 1,1 mg żelaza, co oznacza, że jedna jednostka krwi dostarcza organizmowi około 200-250 mg żelaza. Przetoczenie pacjentowi 2 j. miesięcznie spowoduje przetoczenie 100 j. KKCz w ciągu 4 lat, co z kolei dostarcza organizmowi 20g żelaza, czyli siedmiokrotnie więcej niż całkowita zawartość żelaza w warunkach prawidłowych [41][42]. Tym samym uważa się, że pierwsze cechy IOL pojawiają się po przetoczeniu 10-20 j. KKCz [29]. Regularne zatem transfuzje wykonywane ze wskazań życiowych w celu wyrównania ciężkiej niedokrwistości nieuchronnie prowadzą do kumulacji żelaza i narastania zaburzeń metabolicznych różnych tkanek.

Warto podkreślić, że u chorych z nieefektywną erythropoezą przeładowanie żelazem może nastąpić jeszcze przed rozpoczęciem transfuzji KKCz, co przykładowo stwierdza się u pacjentów z rozpoznaniem MDS. W podtypie anemii odpornej na leczenie (RA, refractory anemia) oraz anemii odpornej na leczenie z obecnością syderoblastów (RARS, refractory anemia with ringed sideroblasts) obserwuje się obniżenie w surowicy krwi poziomu hepcydyny. Mechanizm ten nie został jednoznacznie wyjaśniony, ale zwiększenie ilości ferroportyny poprzez wzrost stężenia białek regulujących gospodarką hepcydyny wzmacnia wchłanianie żelaza w przewodzie pokarmowym i jego uwalnianie z makrofagów [42].

1.3.3. Konsekwencje kliniczne przeładowania organizmu żelazem w wyniku transfuzji KKCz

Pierwsze objawy potransfuzyjnego przeładowania organizmu żelazem pojawiają się po przetoczeniu 20 j. KKCz, gdy zawartość żelaza w organizmie wynosi 15-20 g [4]. Początkowo pierwiastek odkłada się w układzie siateczkowo – śródbłonkowym, następnie w komórkach wątroby, serca, trzustki czy narządach wydzielania wewnętrznego.

Zgromadzone w wątrobie żelazo powoduje jej włóknienie, w dalszej kolejności marskość ze stopniową niewydolnością, a ostatecznie w tej grupie chorych 200-krotnie wzrasta ryzyko rozwoju raka wątrobowokomórkowego. Klinicznie pacjenci mogą zgłaszać dolegliwości bólowe jamy brzusznej zlokalizowane w prawym podżebrzu. Fizykalnie u 95% chorych początkowo stwierdza się hepatomegalię, a także jej wzmożoną konsystencję o niejednokrotnie drobnoguzkowej strukturze widocznej w badaniach obrazowych [43].

Nadmiarowe żelazo powoduje uszkodzenie narządów wydzielania wewnętrznego. Z powodu jego gromadzenia się w przysadce mózgowej i tym samym zaburzenia osi podwzgórze-przysadka dochodzi do spowolnienia wzrostu i słabej odpowiedzi na stymulację

GH (GH, hormon wzrostu). Jest to przyczyną opóźnienia dojrzewania płciowego i hipogonadyzmu hipogonadotropowego. U dziewczynek niejednokrotnie stwierdza się nieprawidłowe miesiączkowanie lub brak miesiączki, a u obu płci często zanik owłosienia pachowego czy łonowego [44]. Stosunkowo rzadko jednak przeciążenie żelazem powoduje niedoczynność tarczycy, przytarczyc czy nadnerczy [5][45]. Toksyczne działanie żelaza wpływa na uszkodzenie wysp trzustkowych, co prowadzi do nieprawidłowej tolerancji glukozy, następnie cukrzycy, a w najcięższej postaci obserwuje się tendencję do kwasicy ketonowej [45].

Najbardziej niebezpiecznym powikłaniem jest gromadzenie żelaza w kardiomiocytach. Taka kumulacja prowadzi do rozwoju kardiomiopatii z zastoinową niewydolnością krążenia. Bezpośrednio jednak zagrażające życiu pacjenta są zaburzenia rytmu pod postacią napadowego częstoskurczu nadkomorowego lub komorowego czy bloku przedsionkowo – komorowego. Te patologie przyczyniają się do zwiększenia ryzyka nagłego zgonu sercowego [45]. W grupie pacjentów z β – talasemią, z powodu realizowanych od okresu niemowlęcego transfuzji KKCz najczęstszą przyczyną zgonów jest kardiomiopatia indukowana odkładającym się żelazem. U niemal każdego chorego obserwuje się uszkodzenie wątroby i endokrynopatie [46].

Do zajęcia tkanki płucnej dochodzi stosunkowo rzadko. Najczęściej obserwowane jest zaburzenie typu restrykcyjnego z obniżeniem całkowitej pojemności płuc.

Nadmiarowe żelazo odkłada się w obrębie skóry i może prowadzić do zaniku naskórka czy przydatków skórnych. Charakterystyczne jest brązowe zabarwienie skóry określane jako „diabetes bronze”, głównie w okolicy twarzy, przedramion i części grzbietowej dłoni czy brodawek sutkowych, dołów pachowych i narządów płciowych, co koreluje z nagromadzeniem melaniny w warstwie podstawnej naskórka. Tak patologicznie zmieniona skóra może mieć skłonność do poparzeń słonecznych czy infekcji [29][45].

IOL zwiększa też znamienne częstość występowania zakażeń bakteryjnych i grzybiczych. Związane jest to z upośledzeniem chemotaksji oraz fagocytozy makrofagów i neutrofilów. Poza tym żelazo gospodarza jest wykorzystywane przez bakterie i grzyby. Kantoghiorghes i wsp. wykazali, że u chorych na talasemię wyjątkowo często dochodzi do infekcji szczepami *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* czy *Pseudomonas* a także *Candida*, *Aspergillus* czy *Cryptococcus* [47][42].

Warto zaznaczyć, że u pacjentów z przeładowaniem organizmu żelazem, zarówno w większości postaci wrodzonych, jak i nabytych, objawy pojawiają się stosunkowo późno i narastają latami. Stopniowo prowadzą do uszkodzenia narządowego, co powoduje ich niewydolności, a także zgon, często w młodym wieku.

1.4. Diagnostyka nadmiaru żelaza w organizmie

Ocena gospodarki żelazem opiera się o badanie stężenia tego pierwiastka w surowicy krwi i oznaczeniu stężenia białek biorących udział w jego homeostazie. Poza parametrami laboratoryjnymi w sposób pośredni zawartość żelaza w organizmie można oszacować przez wykonanie badań obrazowych. Najbardziej wiarygodną metodą jest ocena narządów w rezonansie magnetycznym (MRI, magnetic resonance imaging). Bezpośrednią i adekwatną, aczkolwiek ograniczoną metodą ewaluacji kumulacji żelaza jest biopsja. U pacjentów poddanych allogenicznemu przeszczepieniu szpiku kostnego często niemożliwa do wykonania z uwagi na ciężki stan i duże ryzyko powikłań po zabiegu.

O wyborze metody decyduje jej dokładność, dostępność oraz powtarzalność, co w połączeniu z niskimi kosztami umożliwia monitorowanie leczenia.

Udokumentowana zależność między potransfuzyjnym stanem przeładowania organizmu żelazem a nieprawidłowościami parametrów diagnostycznych, ale też zaburzeniami narządowymi, została przeprowadzona na dużych grupach chorych z rozpoznaniem talasemii czy innych ciężkich niedokrwistości zależnych transfuzji. Niewiele jest jednak w dalszym ciągu doniesień dotyczących interpretacji parametrów diagnostycznych gospodarki żelazem u chorych, którzy otrzymują przetoczenia KKCz w wyniku leczenia przeciwnowotworowego i po zrealizowanej procedurze przeszczepowej (HSCT, hematopoietic stem cell transplantation).

1.4.1. Laboratoryjne metody oceny IOL

Do oszacowania IOL przydatne są trzy dominujące parametry w surowicy: stężenie ferrytyny, żelaza i transferyny [48].

Cząsteczka ferrytyny może wiązać około 4500 atomów żelaza, co oznacza, że przy zwiększonym zapotrzebowaniu na nie, zmagazynowana pula może być szybko uruchomiona [49]. Jak wcześniej wspomniano ferrytyna w > 80% znajduje się w szpiku kostnym, wątrobie i śledzionie, a jej zawartość w surowicy krwi jest śladowa. Istnieje jednak proporcjonalna zależność między ilością ferrytyny, która jest magazynowana wewnątrzkomórkowo, a tej, która jest uwolniona do surowicy krwi. Stężenie ferrytyny zatem dobrze koreluje ze zmagazynowanym w narządach żelazem [5].

Prawidłowe wartości stężenia ferrytyny w surowicy średnio wynoszą 12–300 µg/l u mężczyzn i 12–150 µg/l u kobiet. Przeciążenie żelazem jest definiowane jako stężenie ferrytyny

w surowicy w powtarzalnych oznaczeniach powyżej 1000 µg/l. Jest to poziom, który prawdopodobnie zostanie wykryty po około 20 transfuzjach KKCz [50][51][10]. Należy podkreślić, że stężenie ferrytyny w surowicy może się znacznie różnić u wielokrotnych biorców KKCz. Poziom krytyczny przeciążenia żelazem, przy którym występuje toksyczność i dysfunkcja narządów, nie został ostatecznie ustalony dla oznaczanej w surowicy ferrytyny [10]. Można wiarygodnie przewidzieć, że wysokie ryzyko powikłań kardiologicznych i endokrynologicznych, związane z licznymi transfuzjami i przeładowaniem żelazem u pacjentów z rozpoznaniem talasemii występuje, gdy poziom ferrytyny wynosi > 2500 µg/l.

Na podstawie piśmiennictwa ustalono rekomendowane rozpoczęcie terapii chelatującej żelazo u pacjentów, u których stężenie ferrytyny przekracza 1000 µg/l [52]. Jest to wartość, na podstawie której między innymi kwalifikowano pacjentów do programu „*Doustnego leczenia stanów nadmiarów żelaza w organizmie*” w Polsce [53].

Ferrytyna jest białkiem ostrej fazy i jej stężenie wzrasta w infekcjach, przewlekłych stanach zapalnych, w chorobach nowotworowych czy zespole hemofagocytarnym [52]. Podwyższony poziom obserwuje się w nadczynności tarczycy, przy nadużywaniu alkoholu, przewlekłych chorobach wątroby czy nawet w sytuacjach stresowych. Wysokie stężenie może być także oznaczane u pacjentów z wrodzonym zespołem hiperferrytynemii-zaćmy (HHCS) [48][10]. Niedobór witaminy C czy niedoczynność tarczycy może wpływać na obniżenie jej stężenia [10].

Oznaczenie stężenia ferrytyny jest prostą, powtarzalną i niedrogą metodą, pozwalającą na wdrożenie odpowiedniego leczenia. Sekwencyjna i regularna kontrola jest kluczowym celem służącym do monitorowania terapii chelatującej żelazo. U pacjentów, u których możliwe jest utrzymanie wartości ferrytyny w surowicy poniżej 1000 µg/l, stwierdza się wyższy współczynnik przeżycia i mniejsze toksyczności narządowe [54].

Oznaczanie stężenia żelaza w surowicy nie ma wartości *per se*, gdyż nie odzwierciedla jednoznacznie przeciążenia nim narządów. Pozostaje wskaźnikiem do pomiaru nasycenia transferyny [48]. Zwykle jednak jego poziom jest wysoki i przekracza wartości referencyjne (dla mężczyzn 60-180 µg/dl, dla kobiet 60-160 µg/dl). Stężenie tego pierwiastka zmienia się w ciągu doby, a jego poziom narasta choćby po spożyciu pokarmów bogatych w żelazo [55].

Saturacja transferyny (TS, transferrin saturation) odpowiada stosunkowi stężenia żelaza w surowicy do całkowitej zdolności wiązania żelaza. Uwzględnia zatem zarówno żelazo, jak i jego główne białko transportowe. Zazwyczaj poziom TS powyżej 50% u mężczyzn i 45% u kobiet wskazuje na stan przeładowania żelazem [56]. Użyteczność kliniczna jest jednak

ograniczona z uwagi na ciągle niedoskonałe i mało dostępne metody laboratoryjne. Ponadto zbyt duże wahania dobowe stężenia żelaza utrudniają jej interpretację. Dodatkowym ograniczeniem tej metody badania jest ocena TS w obecności krążących chelatorów, dlatego też lek chelatujący powinien być odstawiony na 24 godziny przed oznaczeniem badanej próbki [48].

Pozostałe parametry, takie jak całkowita zdolność wiązania żelaza (TIBC, total iron-binding capacity) czy utajona zdolność wiązania żelaza (UIBC, unsaturated iron-binding capacity), mimo że pozwalają zrozumieć patofizjologię gospodarki żelazem, nie mają istotnego znaczenia klinicznego.

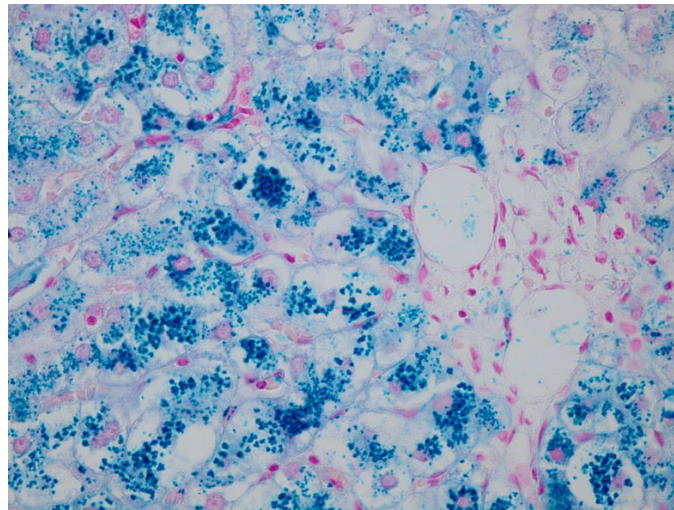
1.4.2. Biopsja narządowa

Biopsja narządowa w praktyce klinicznej ogranicza się do oceny zawartości żelaza w wątrobie, gdyż to właśnie wątroba kumuluje ponad 80% całkowitego żelaza u chorych z jego spichrzaniem [57]. Mimo, że badanie jest uznane za zabieg stosunkowo bezpieczny, niesie jednak ryzyko powikłań u pacjentów z zaburzeniami krzepnięcia. Szczególną grupą narażoną na powikłania krwotoczne po zabiegu są chorzy w trakcie leczenia przeciwnowotworowego oraz poddani przeszczepieniu komórek macierzystych szpiku. W dużym materiale retrospektywnym całkowita liczba powikłań po biopsji wątroby wśród pacjentów ambulatoryjnych wynosiła 11% [58]. W populacji pediatrycznej u chorych po allogenicznym przeszczepieniu szpiku kostnego ryzyko powikłań szacuje się na 20-25% [59][60]. Warto zaznaczyć, że często niejednorodna wielkość materiału biopsyjnego oraz nierównomierny rozkład żelaza w wątrobie mogą prowadzić do błędnych interpretacji [61]. Pomimo ograniczeń biopsja wątroby pozwala jednak bezpośrednio oszacować stopień przeciążenia żelazem oraz rodzaj i stopień uszkodzenia tkanki wątroby, w tym włóknienie czy marskość [48].

Podstawowym wskaźnikiem oceniającym zawartość żelaza jest pomiar LIC (liver iron concentration), który koreluje z całkowitym przeciążeniem organizmu żelazem [61]. Nie ustalono jednak definitywnych norm określających jego zawartość w wątrobie. Przy wykorzystaniu metody atomowej spektrometrii absorpcyjnej oszacować można jego stężenie w 1g suchej masy tkanki (mg/g sm.). Brittenham i wsp. stwierdzili, że pacjenci z rozpoznaniem β -talasemii, którzy mieli LIC większy niż około 15 mg/g sm. wątroby byli narażeni na większe ryzyko powikłań sercowych i przedwczesnej śmierci w porównaniu z pacjentami, których LIC był poniżej tego progu. Wartość przekraczająca 22 mg/g sm. żelaza wątroby oszacowano jako marker uszkodzenia komórek wątroby wskazujący na jej zwłóknienie i marskość [62].

W praktyce histopatologicznej wykorzystuje się barwienie histochemiczne z zastosowaniem błękitu Perlsa, dzięki czemu identyfikowane jest zdeponowane w hepatocytach żelazo w połączeniu z ferrytyną czy hemosydem (rycina 5). Zasadniczo badania obrazowe i molekularne wyparły klasyczną biopsję wątroby jako metodę diagnozującą hemochromatozę. W dalszym ciągu jednak rekomendowana jest ocena wątroby, w tym tzw. „ognisk wolnych od żelaza” uważanych za wczesne zmiany sugerujące rozwój raka wątrobowokomórkowego, a ryzyko jego rozwoju w grupie pacjentów z IOL jest znacznie wyższe niż u tych, u których nie stwierdza się przeciążenia żelazem [40][63].

Biopsja serca czy innych narządów z powodu wysokiego ryzyka powikłań nie jest stosowana w praktyce klinicznej i stanowi przedmiot badań autopsyjnych.



Rycina 5.
Obfite złogi żelaza w hepatocytach zgromadzone w przebiegu hemochromatozy. Barwienie błękitem pruskim wg Perlsa. Dzięki uprzejmości Prof. dr hab. A. Hałoń

1.4.3. Badania obrazowe

Do oceny całkowitej zawartości żelaza w ustroju (TBI) coraz częściej wykorzystywane są badania obrazowe z uwagi na ich nieinwazyjny charakter, powtarzalność i precyzyjne możliwości oceny IOL. Obecnie wykorzystywane są: tomografia komputerowa (CT – computed tomography), obrazowanie za pomocą rezonansu magnetycznego (MRI-magnetic resonance imaging), a także USG.

I. Tomografia komputerowa

W ocenie gospodarki żelazem była stosowana od dawna, ponieważ żelazo powoduje tłumienie promieniowania rentgenowskiego wprost proporcjonalnie do jego stężenia [64]. Czulość badania jest stosunkowo niska, żeby ocenić zawartość tego pierwiastka miarodajnie zwłaszcza w hemochromatozie o łagodniejszym przebiegu [61]. Niemniej jednak technika dual-energy, wykorzystująca w analizowanym obrazie wirtualną zawartość żelaza (VIC – virtual iron content) i oceniającą jego ilość według schematu charakterystycznego dla gromadzącego się żelaza, wydaje się być coraz częściej stosowana. Potencjalnie metoda jest porównywalna do wartości R2 uzyskiwanej w rezonansie magnetycznym, ale pozostaje nadal w fazie eksperymentalnej. Wymaga ponadto eliminacji czynników zakłócających badanie, jak choćby podwyższoną zawartość tłuszczu, co bardzo często towarzyszy gromadzeniu żelaza [65].

II. Rezonans magnetyczny

Obrazowanie rezonansem magnetycznym coraz częściej wykorzystywane jest do oceny IOL. Badanie cechuje bezpieczeństwo, nieinwazyjność, ale też wysoka specyficzność i stosunkowo niskie koszty.

T2 relaksometria

Żelazo spichrzone w narządach wewnętrznych oceniane jest w oparciu o obniżenie czasu T2 relaksacji, co jest indukowane przez właściwości paramagnetyczne samego żelaza. Przyspieszenie czasu T2 relaksacji jest proporcjonalne do ilości zawartego w wątrobie żelaza i powoduje zmniejszenie intensywności sygnału MRI, co następnie jest obliczane przez dopasowanie rozkładu modeli do średniej intensywności sygnałów przy różnych czasach echa [66]. Istnieje wysoka korelacja pomiędzy wynikami z pomiaru T2 w MRI a obrazem histopatologicznym biopsji wątroby [57]. Używając tej metody MRI, gradient echa jest wrażliwy dla niskich wartości żelaza, a traci dokładność przy wartościach wyższych, czyli tych, które wymagają pilnego wdrożenia leczenia [66]. Ograniczeniem metody jest koszt związany z zakupem dodatkowego niestandardowego oprogramowania [57].

Współczynnik intensywności sygnału (SIR, signal intensity ratio)

Zawartość żelaza obliczana jest w oparciu o porównanie intensywności sygnału pochodzącego z wątroby gromadzącej żelazo, a tkanki, która go nie gromadzi, jak na przykład mięśnie szkieletowe (przykręgosłupowe) czy tkanka tłuszczowa. Otrzymuje się pięć obrazów z różnych płaszczyzn przekroju. Przy każdej takiej sekwencji wykonywany jest pomiar intensywności sygnału z trzech obszarów (ROI, region of interest) prawego płata wątroby, co

jest porównywane do sygnału z dwóch obszarów mięśni przykręgosłupowych. LIC obliczane jest na podstawie algorytmu opracowanego przez Y.Gandona [66][67]. Badanie metodą SIR ma swoje ograniczenie; przy wysokiej zawartości żelaza tj. powyżej 350 $\mu\text{mol/g}$ nie jest możliwe uzyskanie proporcjonalnego i precyzyjnego wyniku jak przy wartościach niższych. Niewątpliwą zaletą metody jest powtarzalność, niski koszt badania i możliwość jego przeprowadzenia na niemal każdym aparacie MRI [57].

Spektroskopia rezonansu magnetycznego (MRS, magnetic resonance spectroscopy)

Metoda stosowana jest przede wszystkim w neuroradiologii i służy do oceny guzów mózgu. Wykorzystywana jest w sytuacji, w której pobranie materiału biopsyjnego jest niemożliwe. Badanie MRS umożliwia uzyskać informację o biochemicznym składzie ocenianych tkanek – np. wątroby w przypadku przeładowania jej żelazem. Niestety wadą metody jest brak danych o stosunkach anatomicznych, co może dawać błędne wyniki przy niejednorodnym rozkładzie żelaza w wątrobie [57].

MRI elastografia

Badanie opiera się na założeniu, że tkanki zmienione patologicznie są sztywniejsze i pod wpływem fal dźwiękowych ulegają mniejszemu odkształceniu w porównaniu do tkanek zdrowych. MRI wykonuje się za pomocą źródła drgań, które generuje fale mechaniczne o niskiej częstotliwości w tkance, a następnie przetwarza informacje i generuje obrazy odzwierciedlające stopień ich sztywności. Istnieje silna korelacja między twardością tkanki mierzoną w MRI, a stopniem zwłóknienia potwierdzonym klasycznym badaniem histopatologicznym. Być może badanie będzie alternatywą dla inwazyjnej biopsji, która cały czas jest złotym standardem oceny uszkodzonych patologicznie tkanek [68]. Pomimo wysokiej wartości diagnostycznej MRI elastografii, metoda ta obecnie nie jest powszechnie stosowana z powodu wysokich kosztów aparatury.

III. USG elastografia

W ostatnich latach coraz częściej aparaty USG wyposażone są w dodatkowe urządzenia, które umożliwiają badanie elastografii narządowej. Można wymienić trzy typy badania: elastografia dynamiczna (TE, transient elastography), elastografia fali poprzecznej (SWE - shear wave elastography) oraz elastografia mocy promieniowania akustycznego (ARFI – acoustic radiation force impulse). W metodzie wykorzystuje się indukowaną przez głowicę aparatu wibrację, która prowadzi do powstania fali mechanicznej, a jej prędkość rozprzestrzenia się w miększym narządzie, najczęściej wątrobie i zależy od jego sztywności. Spektrum analizy mierzone jest od 2 do 150 kPa [69]. Metoda oceny twardości wątroby w aspekcie przeładowania

jej żelazem jest rzadko wykorzystywana. Ponadto niewiele jest doniesień z piśmiennictwa dotyczących interpretacji uzyskanych w tym aspekcie wyników.

Tabela 4.

Porównanie parametrów diagnostycznych charakterystycznych dla IOL oraz stanu prawidłowego w zależności od stopnia jego nasilenia; wg [61]; w modyfikacji własnej

Parametr	Norma	Łagodne/ umiarkowane IOL	Ciężkie IOL
Stężenie ferrytyny [$\mu\text{g/l}$]	< 400	1000-2500	>2500
Saturacja transferrytyny [%]	20-45	55-70 (dla mężczyzn) 50-70 (dla kobiet)	>80
LIC [mg/g sm.]	>6.3	<6.3	<1.4
MRI T2R (MRI serca)	>20	10-20	<10

OIL – iron overload, przeładowanie organizmu żelazem, LIC – liver iron concentration, zawartość żelaza w wątrobie, MRI T2R – czas relaksacji T2 w MRI

1.5. Leczenie chelatujące żelazo

Celem leczenia chelatującego jest ograniczenie powikłań wynikających z uszkodzenia narządów przeładowanych żelazem, co w konsekwencji przekłada się na ogólne przeżycie chorych [45]. Nie ma jednolitych algorytmów, aczkolwiek na podstawie rekomendacji NCCN (National Comprehensive Cancer Network) - amerykańskiego sojuszu 21 wiodących ośrodków onkologicznych sugeruje się rozpoczęcie chelatacji żelaza po przetoczeniu 20–30 jednostek KKCz [70]. Zgodnie z zaleceniami ekspertów leczenia przeciążenia żelazem w MDS rekomenduje się rozpoczęcie terapii chelatującej, gdy stężenie ferrytyny w surowicy osiąga 1000 $\mu\text{g/l}$ lub pacjent otrzymuje przynajmniej 2j KKCz miesięcznie w ciągu roku [71].

Terapię chelatującą według zaleceń polskich i międzynarodowych pediatrycznych grup eksperckich należy stosować u pacjentów po przetoczeniu 10-20 j. KKCz, czyli 100-120 ml/kg m.c. lub gdy istnieją cechy narządowego przeładowania żelazem [29][76].

Obecnie na świecie dostępne są trzy preparaty chelatujące żelazo: mesylan deferoksaminy (deferoksamina, DFO, Desferal®), deferypron (Ferriprox®) oraz deferazyroks (DFX, Exjade®).

Deferoksamina (DFO)

Deferoksamina do praktyki klinicznej została wprowadzona w latach 60. XX wieku i stosowana jest do chwili obecnej. Wiąże wolne żelazo oraz żelazo związane z ferrytyną czy hemosyderyną, tworząc związek ferioksaminę. Powstały kompleks jest rozpuszczalny w wodzie i następnie uwalniany przez nerki, zabarwiając mocz na charakterystyczny czerwony

kolor. Deferoksamina łączy się z żelazem w stosunku molowym 1:1, czyli teoretycznie 1g leku może związać 85 mg żelaza Fe^{3+} [45]. Podstawowym problemem z prowadzeniem terapii jest złe wchłanianie z przewodu pokarmowego i krótki czas półtrwania, bo 5-10 minut [42]. Z tego powodu lek podaje się drogą podskórną, a u pacjentów z ciężkim przeładowaniem żelazem preferowana jest podaż dożylna. Domięśniowe stosowanie, mimo że dopuszczone przez producenta, nie jest rekomendowane. Wlewy leku prowadzi się za pomocą pompy elastomerowej przez 8-12 godzin, 5-7 razy w tygodniu. Skrócenie czasu infuzji wpływa na mniejszą skuteczność preparatu [46]. Średnia dobową dawkę wynosi od 25 do 60 mg/kg m.c. U pacjentów, u których poziom ferrytyny jest mniejszy niż 2000 $\mu\text{g/l}$ zaleca się dawkę 25 mg/kg m.c. U dzieci, zwłaszcza poniżej 3 r.ż., dawka dobową nie powinna przekraczać 40 mg/kg m.c. Po osiągnięciu stabilnego poziomu ferrytyny $< 1000 \mu\text{g/l}$, należy rozważyć przerwanie terapii z uwagi na ryzyko toksycznego działania preparatu [72].

Działania niepożądane mogą być związane z samym podaniem leku: rumień, obrzęk, świąd czy ból. Często opisywanymi powikłaniami są trwałe zaburzenia wzroku w wyniku zmian nabłonka barwnikowego siatkówki, utrata pola widzenia czy zmniejszenie ostrości wzroku [73]. Poza tym obserwuje się utratę funkcji słuchu, dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego bądź układu moczowego [74]. Ryzyko powikłań jest mniejsze przy stosowaniu leku w niskich, ale skutecznych dawkach [72]. Deferoksamina jest przede wszystkim rekomendowana, gdy terapia doustna jest przeciwwskazana. Zaleca się też jej stosowanie w ciężkim przeciążeniu żelazem, zwłaszcza, gdy jego złoży zdeponowane są w mięśniu sercowym. Postępowanie takie zwiększa długoterminowe przeżycie w tej grupie pacjentów [46]. Deferoksamina jest preparatem pierwszego rzutu stosowanym w leczeniu ostrego zatrucia żelazem [72].

Deferypron

Preparat charakteryzuje się wysoką biodostępnością i dobrym wchłanianiem z przewodu pokarmowego. Wiąże żelazo w stosunku 3:1, a okres jego półtrwania to 3-4 godziny. Całkowita dawka wynosi 75-100 mg/kg m.c. w 3 dawkach dobowych. Metabolizowany jest przez nerki, a wydalanie żelaza szacuje się na około 0,6 mg/kg m.c. [75].

Wśród działań niepożądanych obserwowano zaburzenia w morfologii krwi: neutropenię (8,5%) czy agranulocytozę (2,4%), były one niezależne od dawki leku [42][75]. Poza tym opisano dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego jak nudności, wymioty i biegunka, a także przejściowy umiarkowany wzrost enzymów wątrobowych czy bóle stawów. W wielu retrospektywnych badaniach potwierdzono, że dzięki lipofilności cząsteczki preparat dostaje

się do miocytów i redukuje zdeponowane w nich żelazo, a tym samym poprawia funkcję układu sercowo-naczyniowego zwłaszcza w zakresie funkcji komór [75]. Deferypron nie jest rekomendowany jako terapia chelatująca pierwszej linii u pacjentów leczonych z powodu choroby nowotworowej i w związku z tym poddanych przewlekłym transfuzjom. Przyczyną jest wysokie ryzyko powikłań przede wszystkim granulocytopenii, a zwłaszcza agranulocytozy [75]. W Polsce preparat nie ma rejestracji. W USA jest dostępny, ale stosowany raczej w terapii skojarzonej z deferoksaminą u pacjentów z niewydolnością serca z powodu przeciążania żelazem [46].

Deferazyroks (DFX)

Preparat jest najnowszym dostępnym chelatorem żelaza zatwierdzonym przez EMA (European Medicines Agency) od 2008 r. W Polsce w latach 2014-2019 r. dostępny był jedynie dla pacjentów od 2 do 18 r.ż. i dorosłych, którzy rozpoczęli leczenie przed ukończeniem 18 r.ż., u których stwierdzono przeładowanie ustroju żelazem w wyniku transfuzji KKCz. W chwili obecnej tj. refundacja obejmuje także jedynie dzieci [76].

Wprowadzenie deferazyroksu do praktyki klinicznej było przełomem w terapii chelatującej żelazo. Lek jest doustnym preparatem o długotrwałym okresie półtrwania, bo 11-19 godzin, co pozwala na przyjmowanie go raz na dobę. W ciągu 24 godzin zatem zapewnione jest utrzymanie trwałej eliminacji toksycznej labilnej frakcji żelaza [25]. Właściwości lipofilowe oraz niska masa cząsteczki umożliwiają wnikanie do komórek i eliminację żelaza [76]. Lek selektywnie działa w stosunku do żelaza trójwartościowego i wiąże się z dużym powinowactwem w stosunku molowym 2:1 [29]. Wydalany jest z organizmu przez przewód pokarmowy [10].

Preparat rekomendowany jest w leczeniu przeciążenia żelazem w wyniku częstych transfuzji u pacjentów z ciężką postacią talasemii w wieku 6 lat i starszych jako leczenie I rzutu. Zalecany jest także u pacjentów z poprzetoczeniowym przeładowaniem żelazem niezależnie od przyczyny od 2 r.ż. (leczenie II rzutu), gdy terapia deferoksaminą jest przeciwwskazana lub nieodpowiednia. Producent preparatu zaleca rozpoczęcie leczenia po przetoczeniu około 20 j. KKCz, czyli około 100 ml/kg m.c., gdy istnieją dowody potwierdzające występowanie przewlekłego przeciążenia żelazem przy poziomie ferrytyny > 1000 µg/l. Dawka początkowa to 20 mg/kg/dobę. Preparat rozpuszczony w 200 ml wody lub soku pomarańczowego podaje się o stałej porze. Można rozważyć stosowanie wyższej dawki, tj. 30 mg/kg/dobę, zwłaszcza u pacjentów z ciężkim przeładowaniem żelazem. Można zredukować dawkowanie do 10 mg/kg m.c./dobę u tych chorych, którzy otrzymują mniej niż 7 ml/kg m.c./dobę KKCz lub u

pacjentów, u których odnotowano działania niepożądane. Przerwanie terapii zalecane jest, gdy stężenie ferrytyny w surowicy zmniejszy się $< 1000 \mu\text{g/l}$. Każdorazowo terapię należy ściśle monitorować, oceniając parametry laboratoryjne gospodarki żelazem raz w miesiącu z odpowiednim dostosowaniem dawkowania. [29][76].

Preparat jest dobrze tolerowany. Do jego działań niepożądanych należą zaburzenia żołądkowo-jelitowe (26%), w tym najczęściej ból brzucha, nudności, wymioty, zaparcia czy biegunka. U około 1/3 pacjentów obserwuje się umiarkowane i przejściowe zwiększenie stężenia kreatyniny, ustępujące po zmniejszeniu dawki, bądź odstawieniu preparatu. Ponadto mogą wystąpić bóle głowy, wysypka, świąd czy wzrost aktywności enzymów wątrobowych. Do bardzo rzadko występujących działań niepożądanych zalicza się zaćmę oraz zaburzenia słuchu [25][76]. Z tego powodu przed rozpoczęciem leczenia należy ocenić stan ogólny pacjenta, parametry biochemiczne, szczególnie zwracając uwagę na poziom enzymów wątrobowych i parametry nerkowe. Nie zaleca się rozpoczynania terapii, gdy dwukrotne oznaczenie stężenia kreatyniny przekracza normę lub klirens kreatyniny jest poniżej wartości prawidłowych [25]. Zasady kontynuacji terapii, jej modyfikacji czy przerwania ściśle określa charakterystyka produktu leczniczego, co przekłada się na reguły programu lekowego [76]. Zestawienie porównawcze preparatów chelatujących żelazo zostało przedstawione poniżej (tabela nr 5).

Tabela 5.
Porównanie preparatów chelatujących żelazo; wg [52], w modyfikacji własnej

Parametry	Deferoksamina	Deferypron	Deferazyroks
Waga molekularna [g/mol]	560	139	373
Chelator : żelazo	1:1	3:1	2:1
Droga podania	podskórnie/ dożylnie	doustnie	Doustnie
Sposób eliminacji	z moczem i kałem	z moczem	z kałem
Czas półtrwania	20 min.	1-4 godz.	12-16 godz.
Standardowa dawka[mg/kg m.c./d]	25-50	75	20
Podaż	8-12 godzin, 5-7 razy w tygodniu	3 razy/d	1 raz/d
Zalety	skuteczny preparat, stosowany długotrwale,	korzystnie usuwa żelazo z kardiomiocytów	doustna podaż, 1x dobę, łagodne skutki uboczne, skuteczny w aspekcie przeładowania żelazem wątroby i serca
Wady	niekorzystny dla pacjenta schemat podawania leków, słaby wpływ	ryzyko neutropenii, dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego, bóle stawów	refundacja dostępna dla dzieci, wysoki koszt terapii, dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego, zaburzenie funkcji nerek i wątroby

Krwiouputy

Upusty krwi (flebotomia), czyli najstarsza metoda leczenia przeciążenia żelazem stosowana od czasów antycznych obecnie rekomendowana jest zasadniczo dla trzech wskazań: hemochromatozy wrodzonej, czerwienicy prawdziwej oraz porfirii skórnej. Biorąc pod uwagę pacjentów z dziedziczną hemochoromatozą jest podstawą terapii poza podtypami opisanymi powyżej. Trudno jest jednoznacznie oszacować ewidentną korzyść flebotomii z uwagi na brak randomizowanych badań. Wśród obserwowanych pacjentów u ponad połowy odnotowano poprawę w zakresie zabarwienia skóry, ustąpienia skrajnego zmęczenia i depresji. U około ¼ obserwowano ustąpienie dolegliwości bólowych brzucha, impotencji czy poprawę libido. U niespełna 10% uzyskano stabilizację zaburzeń kardiologicznych [77].

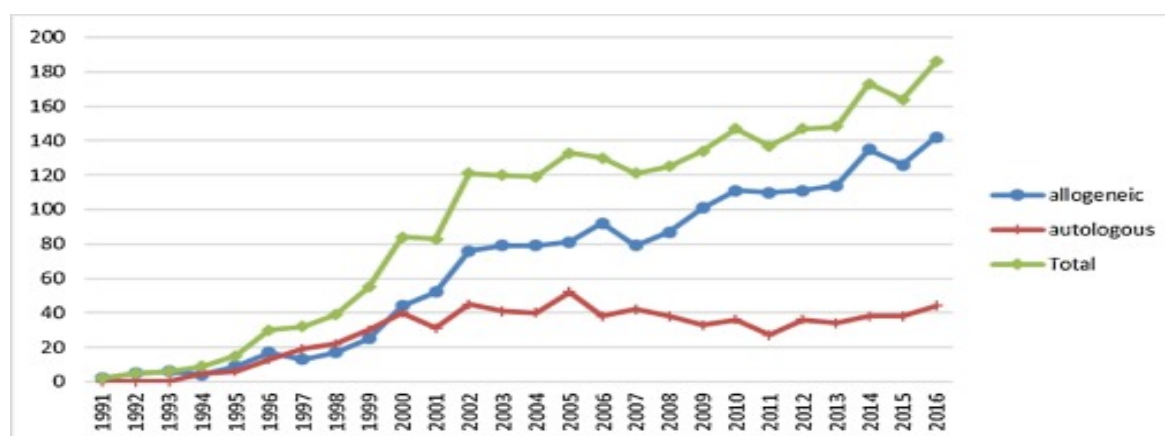
W potransfuzyjnym przeładowaniu organizmu żelazem upusty krwi są wskazane dla pacjentów, u których obecne są objawy choroby w celu zapobiegania uszkodzeniu narządowemu. Sugerowane stężenie ferrytyny, powyżej którego rozpoczyna się leczenie to 3000 µg/l dla mężczyzn oraz 2000 µg/l dla kobiet. W trakcie każdego zabiegu usuwane jest około 450 ml pełnej krwi, co zawiera około 200-250 mg żelaza [77]. Nie ma jednoznacznych wytycznych dotyczących schematu realizacji upustów krwi. Zabiegi wykonuje się początkowo raz w tygodniu do osiągnięcia stężenia ferrytyny poniżej 500 µg/l i nasycenia TS < 50%. W niektórych opracowaniach zaleca się kontynuację intensywnego leczenia do osiągnięcia niedokrwistości z niedoboru żelaza. Faza usuwania nadmiaru żelaza trwa około 1-2 lata, natomiast faza podtrzymująca jest długotrwała i polega na kontynuacji upustów 3-4 razy w roku u mężczyzn i 1-2 razy w roku u kobiet [77]. Wg stanowiska ekspertów EBMT (European Bone Marrow Transplantation) dopuszczalna objętość usuwania krwi pełnej to 5-7 ml/kg m.c. początkowo co 2-3 tygodnie [78]. Niemniej jednak zabiegi nie są powszechnie stosowane. Procedura wymaga implantacji wkłucia centralnego i częstych dodatkowych hospitalizacji. Poza tym upusty krwi nie mają zastosowania u pacjentów z niedomogą szpiku, u których stosuje się przetoczenia KKCz ze wskazań życiowych [79].

Udowodniono, że metoda pośrednio powoduje usunięcie frakcji NTBI, tym bardziej puli LPI, czyli najbardziej toksycznej dla tkanek formy żelaza w porównaniu do preparatów chelatujących żelazo [78][80].

1.6. Przeszczepienie allogenicznych komórek krwiotwórczych w populacji pediatrycznej

Przeszczepienie komórek krwiotwórczych (HSCT, Haematopoietic Stem Cell Transplantation) jest procedurą ratującą życie stosowaną w leczeniu wielu chorób nowotworowych i nienowotworowych układu krwiotwórczego, ciężkich wrodzonych niedoborów immunologicznych czy chorób metabolicznych, a także niektórych guzów litych [79]. Z uwagi na pewną „plastyczność” komórki macierzyste w odpowiednich warunkach mogą przekształcić się w komórki różnych tkanek, co jest obecnie wykorzystywane coraz szerzej w medycynie regeneracyjnej [81]. Celem transplantacji w chorobach nienowotworowych jest zastąpienie nieprawidłowych autologicznych, wielopotencjalnych komórek hematopoetycznych pacjenta przez komórki pobrane od zdrowego dawcy. W chorobach nowotworowych istotą procedury jest zniszczenie lekoopornego klonu komórek patologicznych poprzez zastosowanie cytostatyków podawanych w megadawkach i/lub napromieniowanie całego ciała. Ponadto wykorzystywany jest efekt przeszczep przeciw nowotworowi, co jest elementem immunoterapii [78].

Od czasu wykonania pierwszego HSCT u dziecka w Polsce zrealizowano do 2016 r. 2506 procedur HSCT w populacji pediatrycznej, z czego ok. 69% stanowiły przeszczepienia allogeniczne, a 31% przeszczepienia autologiczne [82].



Rycina 6.

Liczba i rodzaj transplantacji zrealizowanych w polskich pediatrycznych oddziałach przeszczepowych w latach 1989-2016. Wg [83]

W zależności od rodzaju dawcy wyróżnia się przeszczepienie allogeniczne: od dawcy rodzinnego (MFD, match familial donor) lub dawcy niespokrewnionego (MUD, match unrelated donor), syngeniczne i autologiczne.

Allogeniczna transplantacja komórek macierzystych (allo-HSCT, allogeneic haematopoietic stem cell transplantation) jest złożoną procedurą polegającą na zastąpieniu komórek hematopoetycznych biorcy komórkami dawcy. Najkorzystniejsze wyniki uzyskuje się w sytuacji, kiedy dawcą jest rodzeństwo z pełną lub częściową zgodnością antygenową HLA (Human Leukocyte Antigen) [83]. Dla większości jednak pacjentów, czyli tych, dla których nie ma w najbliższej rodzinie zgodnego dawcy, wyborem jest odpowiednio dobrany dawca niespokrewniony. W ostatnim dziesięcioleciu uzyskano poprawę w związku z ogólnym przeżyciem po allo-HSCT. Jest to związane między innymi ze znacznym postępowaniem wśród doboru dawców, w tym także dawców haploidentycznych i dawców krwi pępowinowej [84]. Dzięki coraz większej liczbie dawców niespokrewnionych, dostępności do procedury i szerszym wskazaniami liczba allo-HSCT zasadniczo wzrasta [85].

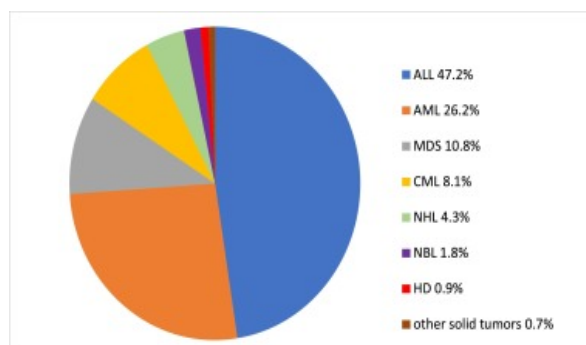
Przeszczepienie syngeniczne, czyli od identycznego bliźniaka, wydaje się być rozwiązaniem idealnym, choćby z uwagi na brak ryzyka choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD, graft versus host disease). Paradoksalnie taka perfekcyjna identyczność w przypadku rozrostów hematologicznych może mieć niekorzystne działanie z uwagi na brak efektu GvL (graft versus leukemia), co wiąże się z większym odsetkiem wznów choroby podstawowej w tej grupie chorych [86].

Przeszczepienie autologiczne (auto-HSCT, autologous haematopoietic stem cell transplantation) jest rodzajem transplantacji, gdzie dawcą i biorcą jest ta sama osoba, czyli pacjent. Procedura umożliwia zastosowanie wysokich dawek chemioterapii, czego konsekwencją jest aplazja szpiku. Z tego powodu podaje się pacjentowi pobrane wcześniej i zamrożone jego własne komórki macierzyste, aby uzyskać odnowę hematologiczną. Zaletą auto-HSCT jest brak ryzyka wystąpienia reakcji związanej z niezgodnością materiału genetycznego, czyli GvHD i mniejsze ryzyko powikłań poprzyszczepowych. Obecnie auto-HSCT stosuje się w leczeniu guzów litych w rozsianym stadium choroby. W polskiej populacji pediatrycznej najczęstszym rozpoznaniem, w którym realizuje się auto-HSCT, jest neuroblastoma (59,8%), następnie Ewing sarcoma (20,4%) [82].

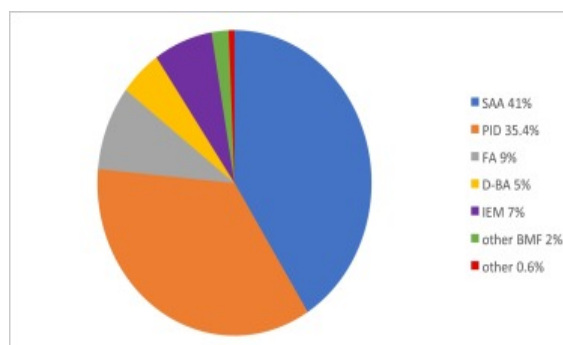
Źródłem materiału przeszczepowego może być szpik kostny, komórki macierzyste uzyskane z krwi obwodowej czy komórki progenitorowe krwi pępowinowej. W Polsce najczęściej stosowany jest szpik kostny, co stanowi 50,9% z uwagi na potencjalnie mniejsze ryzyko ciężkiej postaci GvHD. W 47,3% wykorzystuje się komórki macierzyste krwi obwodowej oraz 1,8% krew pępowinowa [78][82].

Spośród wszystkich realizowanych allo-HSCT w polskiej populacji pediatrycznej około 74% stanowią przeszczepienia z powodu choroby nowotworowej, podczas gdy 26% w związku

z wrodzonym lub nabytym nienowotworowym zaburzeniem szpiku czy układu immunologicznego [82].



Rycina 7.



Rycina 8.

Zestawienia wskazań do allo HSCT w populacji dziecięcej w polskich ośrodkach przeszczepowych w latach 1989-2016 r. z rozpoznaniem choroby nowotworowej – rycina 7 oraz zaburzeń nienowotworowych – rycina 8

ALL – acute lymphoblastic leukemia, ostra białaczka limfoblastyczna; AML – acute myeloblastic leukemia, ostra białaczka mieloblastyczna; CML – chronic myeloid leukemia, przewlekła białaczka szpikowa, NHL – non-Hodgkin's Lymphoma, chłoniak nieziarniczy; SAA – severe acquired aplastic anemia, ciężka anemia aplastyczna; BDA – Blackfan-Diamond anemia, anemia Blackfana-Diamonda; PID - primary immunodeficiency, pierwotne niedobory odporności, NBL – neuroblastoma; IEM – inborn errors of metabolism – wrodzone zaburzenia metaboliczne

Należy podkreślić, że liczba transplantacji u dzieci z ostrymi białaczkami, zwłaszcza ALL (acute lymphoblastic leukemia, ostra białaczka limfoblastyczna) systematycznie wzrasta, podczas gdy maleje u pacjentów z CML (chronic myeloid leukemia, przewlekła białaczka szpikowa) z uwagi na leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej [85]. Obserwuje się także ogólny wzrost liczby HSCT w przypadku nienowotworowej dysfunkcji szpiku. W dalszym ciągu natomiast niska jest liczba transplantacji u dzieci z wrodzonymi zaburzeniami metabolicznymi [82].

Infuzję komórek krwiotwórczych poprzedza postępowanie przygotowawcze zwane kondycjonowaniem, które polega na stosowaniu mieloablacyjnej chemioterapii lub radioterapii, a także leków immunosupresyjnych. Celem jest zniszczenie nieprawidłowo funkcjonującego szpiku kostnego i wytworzenie przestrzeni dla komórek dawcy. Bezpośrednim i jednocześnie zamierzonym działaniem kondycjonowania jest nieodwracalne zniszczenie komórek szpiku kostnego, co z kolei powoduje uszkodzenie innych tkanek i narządów [86].

Mimo postępu wiedzy w dalszym ciągu przeszczepienie komórek krwiotwórczych jest procedurą obciążoną wysoką śmiertelnością niezależną od wznowy choroby podstawowej

15-40% [7][78], a powikłania poprzyszczepowe są zasadniczą przyczyną niepowodzenia leczenia. Niemal u każdego pacjenta rozwijają się infekcje oportunistyczne wynikające z ciężkiej neutropenii i immunosupresji. Pomimo stosowanej profilaktyki przeciwdrobnoustrojowej, leczenia wyprzedzającego, a następnie celowanego infekcje są istotnym problemem odpowiedzialnym za wysoką śmiertelność związaną z transplantacją. Zasadniczym problemem jest częste występowanie zakażeń krwiopochodnych i związanych z kolonizacją patogenami alarmowymi. Długotrwała rekonstrukcja immunologiczna jest przyczyną infekcji wirusowych. W populacji dziecięcej poza reaktywacjami wirusów latentnych występują zakażenia pierwotne [78]. Biorcy HSCT są także narażeni na rozwój inwazyjnej infekcji grzybiczej (IFI, invasive fungal infection). Co prawda dzięki szerokospektralnej profilaktyce pozakonazolem częstość IFI radykalnie obniżyła się, niemniej jednak cały czas ryzyko jej rozwoju u dzieci wynosi $> 13\%$ [87]. Jak wcześniej wspomniano nadmiarowe żelazo w organizmie wpływa na promocję rozwoju drobnoustrojów siderofilnych oraz zaburzenie funkcji układu immunologicznego, co jest czynnikiem wpływającym na wynik HSCT [88]

Powikłaniem znacznie pogarszającym wyniki leczenia związane z HSCT jest GVHD obserwowana w okresie rekonstrukcji immunologicznej. Zasadniczo wyróżnia się dwie postaci: ostrą (aGvHD) rozpoznawaną do 100 doby po HSCT oraz przewlekłą (cGvHD), zgodnie z definicją >100 doby od HSCT [78].

1.7. Zaburzenia gospodarki żelazem u pacjentów poddanych allo-HSCT

Pacjenci poddani procedurze przeszczepowej są szczególnie narażeni na przeciążenie żelazem z powodu wielokrotnych przetoczeń KKCz, zarówno przed HSCT (choroby nowotworowe i ciężkie niedokrwistości), jak również po zrealizowanym przeszczepieniu.

Pośrednim czynnikiem IOL jest często nieefektywna hematopoeza w okresie okołoprzyszczepowym, której towarzyszy zwiększona reabsorpcja jelitowa tego pierwiastka. Obserwowanym po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych zjawiskiem jest przejściowa hemoliza w trakcie potencjalnej zmiany grupy krwi, co stanowi wskazanie do dodatkowych transfuzji KKCz.

Wpływ toksycznej wolnej puli żelaza na wyniki HSCT został wnikliwie przeanalizowany u chorych z rozpoznaniem talasemii, anemii wrodzonych czy MDS u osób dorosłych. Udowodniono, że nieregularne leczenie chelatorami żelaza, włóknienie wątroby i

czas ekspozycji czynnika uszkodzającego przed HSCT wpływają istotnie na jego gorsze wyniki [78]. W czasie stosowanego kondycjonowania znaczna ilość NTBI przechodzi do krwiobiegu w wyniku masywnej, zamierzonej lizy szpiku. Dopiero odnowa hematopoetyczna i odzyskiwanie żelaza do budowy hemu powodują jego wychwytywanie przez prekursor erytrocytów. Niemniej jednak frakcja wolna transferyny raczej korzysta ze zmagazynowanego żelaza niż z puli NTBI. Ponadto wolne, nadmiarowe żelazo ogranicza potencjał mikrośrodowiska szpiku, co z kolei wpływa negatywnie na odnowę hematopoetyczną [89]. Warto podkreślić, że samo kondycjonowanie, którego konsekwencją może być uszkodzenie hepatocytów, makrofagów czy erytrocytów z jednoczesnym zaburzeniem syntezy transferyny prowadzi do wzrostu NTBI [7].

W grupie pacjentów po HSCT ryzyko wystąpienia uszkodzenia narządów jest szczególnie wysokie w skutek kumulowania się przeładowania żelazem, toksyczności leków stosowanych przed transplantacją, jak również samego kondycjonowania. Powikłania poprzyszczepowe jak choroba wenookluzyjna wątroby (VOD-SOS, venoocclusive disease-sinusoidal obstruction syndrome), niewydolność wielonarządowa (MOF – multiorgan failure), mikroangiopatia związana z transplantacją (TAM – transplantation associated microangiopathy), krwawienie rozsiane dopełcherzykowe (DAH – diffuse alveolar hemorrhage) także powodują uszkodzenie narządowe. Żelazo z uwagi na jego toksyczny potencjał oksydoredukcyjny może być dodatkowym czynnikiem, który potęguje uszkodzenie tkanek, np. hepatocytów w VOD-SOS. [78].

Tabela 6.

Powikłania po HSCT i wpływ IOL na ich wystąpienie wg [79] w modyfikacji własnej

Powikłania po HSCT	Wpływ IOL na powikłanie
<i>Wczesne powikłania po HSCT (< 1 roku po HSCT):</i>	
Infekcje	Mucormycoza, aspergilloza, Listeria spp. Proteus spp.i inne bakteryjne infekcje
aGvHD	Brak jednoznacznych danych, ale prawdopodobnie IOL zwiększa ryzyko wystąpienia aGvHD
NMR	Zwiększa ryzyko NMR
<i>Późne powikłania po HSCT (> 1 roku po HSCT):</i>	
Infekcje	Mucormycoza, aspergilloza,
cGvHD	Brak jednoznacznych danych, ale prawdopodobnie IOL nie wpływa na wystąpienia cGvHD
Zaburzenia funkcji wątroby	Zwiększa ryzyko hepatotoksyczności
Powikłania kardiologiczne	Zwiększa ryzyko kardiotoxyczności
NRM	Zwiększa ryzyko NMR

HSCT – hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek krwiotwórczych, IOL – iron overload, przeładowanie organizmu żelazem, GvHD – graft versus host disease – choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi, NRM – non relapse mortality, śmiertelność niezależna od wznowy

2. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY

Pacjenci poddani procedurze przeszczepienia allogenicznych komórek krwiotwórczych są narażeni na znaczne przeciążenie żelazem, co może skutkować poważnym uszkodzeniem tkanek i narządów. Dlatego też diagnozowanie pacjentów na różnych etapach leczenia i wdrożenie optymalnego postępowania terapeutycznego jest uzasadnione w tej grupie chorych.

Celem pracy jest:

- I.** Analiza metod diagnostycznych przeładowania ustroju żelazem u dzieci po transplantacji allogenicznych komórek krwiotwórczych
- II.** Ocena skuteczności terapii deferyzyroksem u pacjentów pediatrycznych po HSCT, u których stwierdzono przeładowanie ustroju żelazem
- III.** Analiza niepożądanych następstw zastosowanej terapii deferyzyroksem.

3. MATERIAŁ I METODY

3.1. Materiał badawczy

W badaniu wzięło udział 82 pacjentów poddanych transplantacji allogenicznych komórek krwiotwórczych. Pacjenci leczeni byli w polskich ośrodkach onkologii i hematologii dziecięcej (Warszawa, Łódź, Zabrze, Katowice, Chorzów, Szczecin, Olsztyn, Kielce i Wrocław). Procedura przeszczepowa u każdego z chorych została zrealizowana w Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu w latach 2009-2018.

Na realizację niniejszego badania uzyskałam zgodę lokalnej Komisji Bioetycznej o numerze KB 793/2018. Badanie w żadnym stopniu nie wpłynęło na proces terapeutyczny pacjentów. Zgodnie z obowiązującymi przepisami dla celów statystycznych dane chorych zostały zanonimizowane.

Wszyscy pacjenci w toku leczenia otrzymali liczne transfuzje KKCz. Na podstawie ich ilości (pomiar w j. i ml/kg m.c.), klinicznych i laboratoryjnych wykładników gospodarki żelazem, a także radiologicznym obrazie stwierdzono przeładowanie organizmu tym pierwiastkiem i ustalono wskazanie do leczenia chelatującego żelazo.

Grupa badana (DFX) otrzymała doustny preparat deferazyroks, natomiast grupa kontrolna (CTRL), mimo stwierdzonych cech IOL leczenia chelatującego nie otrzymała.

Tabela 7.

Porównanie parametrów klinicznych grupy DFX i CTRL

	DFX	CTRL
Liczba pacjentów [n]	41	41
Wiek średnia (min; max)	10,5 (2,12; 17,58)	11,7 (2,0; 11,4)
Płeć [n] K:M	13:28	19:22
Masa ciała [kg] (min; max)	36 (11; 83)	41 (11; 100)
Rozpoznanie choroby podstawowej [n]:		
ALL	17	20
AML	15	12
MDS	1	4
NHL	1	0
SAA	2	1
BDA	2	1
FA	1	0
SCID	1	1
JXG	1	0
NBL	0	1
JMML	0	1
Rodzaj HSCT, typ dawcy [n]:		
MUD	31	31
MSD	8	12
HAPLO	2	1
Źródło HSCT [n]:		
BM	8	7
PB	33	38
CB	0	0
Liczba HSCT [n]:		
1	33	37
2	6	4
3	0	0
4	2	0
Czas stwierdzenia IOL od HSCT [dni, (min; max)]	199 (96; 791)	233 (117;597)

Min – minimum; max – maksimum; K- kobieta; M – mężczyzna; ALL – acute lymphoblastic leukemia, ostra białaczka limfoblastyczna; AML – acute myeloblastic leukemia, ostra białaczka mieloblastyczna; NHL – non-Hodgkin's Lymphoma, chłoniak nieziarniczy; SAA – severe acquired aplastic anemia, ciężka anemia aplastyczna; BDA – Blackfan-Diamond anemia, anemia Blackfana-Diamonda; FA – Fanconi anemia, anemia Fanconiego; SCID – severe combined immunodeficiency syndrome, ciężki złożony niedobór odporności; JXD – juvenile xantogranuloma, żółtakoziarniniak młodzieńczy; NBL – neuroblastoma; JMML-juvenile myelomonocytic leukemia, młodzieńcza białaczka mielomonocytowa; HSCT – haematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie hematopoetycznych komórek krwiotwórczych; MUD – matched unrelated donor – zgodny w HLA dawca niespokrewniony; MSD- matched sibling donor – zgodny dawca rodzinny; haplo – dawca haploidentyczny; BM – bone marrow, szpik kostny; BP – peripheral blood, krew obwodowa, CB – cord blood, krew pępowinowa; IOL – iron overload, przeładowanie organizmu żelazem

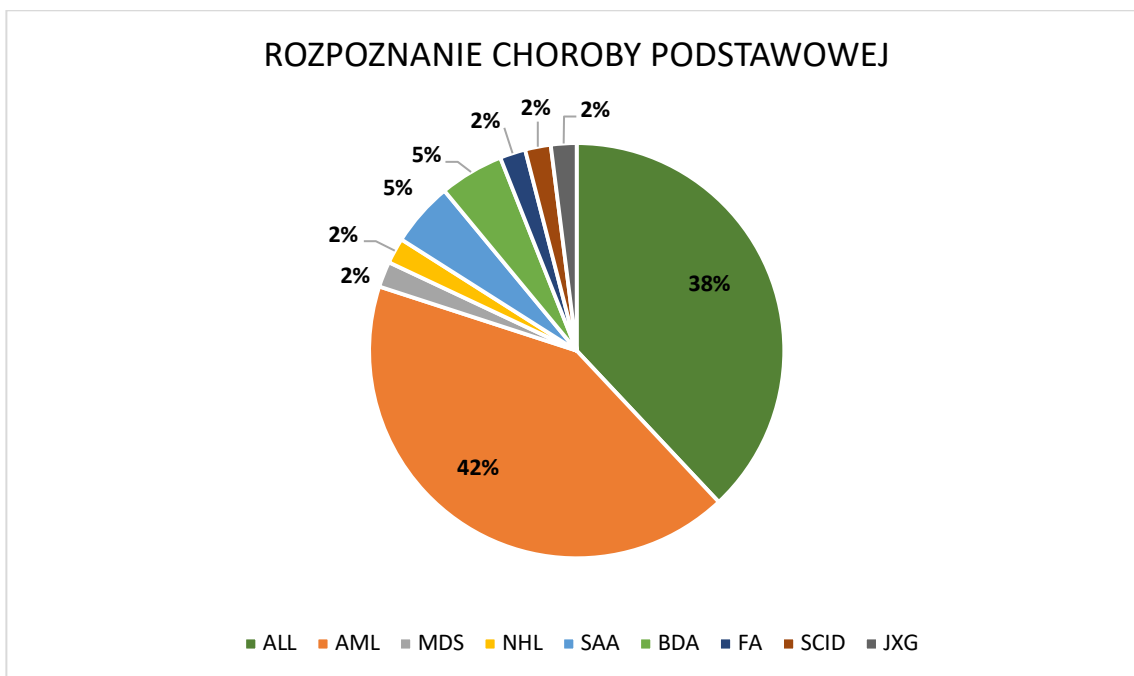
Grupa badana (DFX)

Grupę stanowiło 41 pacjentów; 13 (32%) dziewcząt i 28 (68%) chłopców. Badanie tej grupy miało charakter prospektywny.

Wszyscy chorzy zostali poddani transplantacji allogenicznych komórek krwiotwórczych. Wskazaniem do przeprowadzenia procedury przeszczepowej było

rozpoznanie choroby nowotworowej u 34 (83%) chorych, natomiast u 7 (17%) dzieci powodem były nienowotworowe zaburzenia hematologiczne i immunologiczne.

Szczegółowe zestawienie diagnozy choroby zasadniczej przedstawione jest na rycinie nr 9.



Rycina 9.

Rozpoznanie choroby podstawowej będące wskazaniem do procedury HSCT w grupie DFX.

ALL – acute lymphoblastic leukemia, ostra białaczka limfoblastyczna; AML – acute myeloblastic leukemia, ostra białaczka mieloblastyczna; NHL – non-Hodgkin’s Lymphoma, chłoniak nieziarniczny; SAA – severe acquired aplastic anemia, ciężka anemia aplastyczna; BDA – Blackfan-Diamond anemia, anemia Blackfana-Diamonda; FA – Fanconi anemia, anemia Fanconiego; SCID – severe combined immunodeficiency syndrome, ciężki złożony niedobór odporności; JXD – juvenile xanthogranuloma, żółtakoziarniniak młodzieńczy

Po zrealizowanej procedurze przeszczepowej z powodu IOL pacjentom włączono doustny preparat deferyzyroks. Spośród wszystkich chorych tej grupy 36 dzieci otrzymało lek w ramach programu lekowego NFZ: „Leczenie doustne stanów nadmiaru żelaza w organizmie” (wg ICD-10 E.83.1). Pięcioro pacjentów otrzymało preparat zakupiony z innego źródła finansowania. Wszyscy chorzy odbywali regularne, comiesięczne wizyty szpitalne wg schematu programu lekowego.

Kryteria włączenia DFX

I. Wiek

Leczenie chelatujące żelazo włączono u chorych > 2 r.ż. i <18 r.ż. Średnia wieku w momencie rozpoczęcia leczenia wynosiła 9 lat i 6 m-cy (min 2,12; max 17,58).

II. Liczba transfuzji

Leczenie włączano po przetoczeniu około 20 j. KKCz lub > 100 ml/kg mc.

III. Parametry gospodarki żelazowej

Zasadniczym parametrem potwierdzającym przewlekłe przeciążenie żelazem było wielokrotnie stwierdzone podwyższone stężenie ferrytyny $> 1000 \mu\text{g/l}$. Wzięto również pod uwagę pozostałe parametry gospodarki żelazem jak jego stężenie, TIBC czy stężenie transferyny, ale nie były to czynniki decydujące o włączeniu leczenia.

IV. Uzyskanie pisemnej zgody na włączenie leczenia chelatującego

Od każdego z rodziców lub opiekunów i pacjentów po 16 r.ż. uzyskano pisemną zgodę na włączenie leczenia preparatem deferazyroks.

V. Brak przeciwwskazań medycznych

Przeciwwskazaniem do stosowania preparatu wg CHPL (charakterystyka produktu leczniczego) była nadwrażliwość na substancję czynną lub pomocniczą. Ponadto nie włączano preparatu, jeżeli był stosowany inny lek chelatujący, gdyż nie odnotowano bezpieczeństwa skojarzonej terapii. deferazyroksem nie stosowano u pacjentów z obniżonym klirensiem kreatyniny $< 60 \text{ ml/min}$ lub z ciężkimi zaburzeniami funkcji wątroby, gdy aktywność aminotransferaz 5-krotnie przekraczała granicę normy [75].

Kryteria wyłączenia/odstawienia DFX

I. Uzyskanie zadowalającej odpowiedzi na leczenie

Uzyskanie odpowiedzi na leczenie rozumianej jako spadek poziomu ferrytyny $< 1000 \mu\text{g/l}$, aczkolwiek decyzję podejmowano indywidualnie.

II. Oświadczenie pisemne na brak kontynuacji leczenia

Przerywano leczenie, gdy nie uzyskano pisemnej zgody rodzica lub opiekuna i/lub pacjenta po 16 r.ż. na kontynuację leczenia deferazyroksem.

III. Przeciwwskazania medyczne

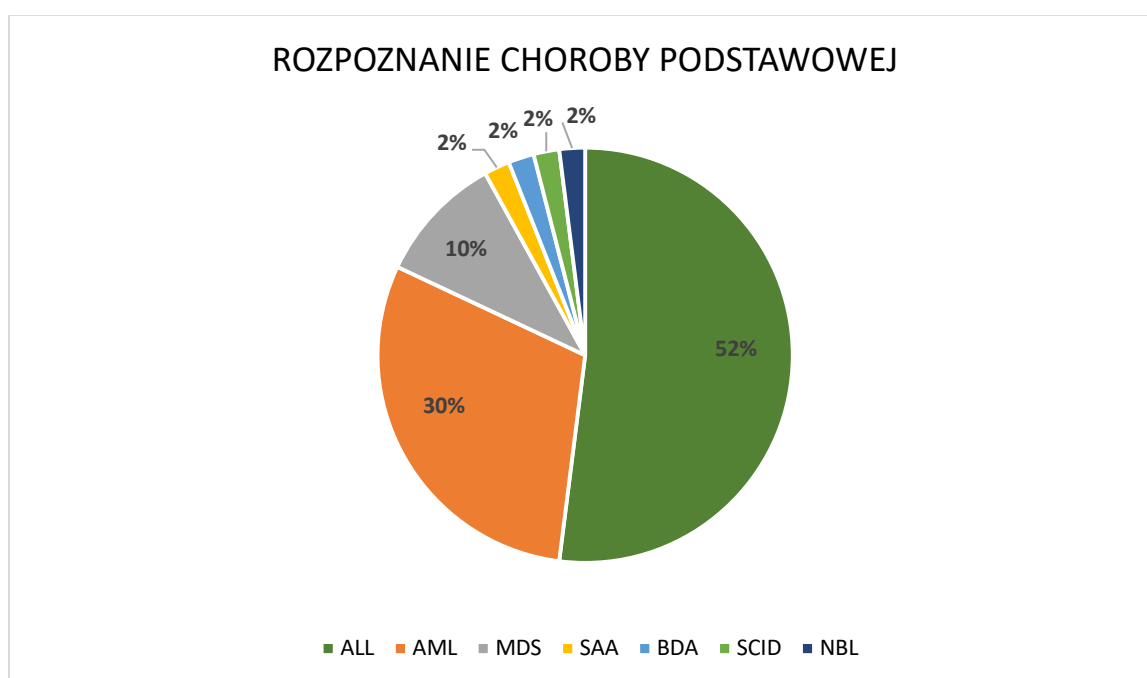
Leczenie przerywano, jeśli po redukcji dawki nastąpił wzrost stężenia kreatyniny w surowicy $> 33\%$ od wartości wyjściowej lub jej klirens obniżył się poniżej dolnej granicy normy. Podobnie wzrost transaminaz wątrobowych w surowicy $> 5 \times \text{N}$ był wskazaniem do przerywania leczenia. Indywidualnie podejmowano decyzję o redukcji dawki czy przerywaniu leczenia, gdy obserwowano nieprawidłowości w badaniu ogólnym moczu, dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego czy zmiany skórne.

W tej grupie chorych 11 (27%) dzieci otrzymało przed HSCT leczenie chelatujące: deferoksamina - 9, deferazyroks – 1, upusty krwi -1.

Grupa kontrolna (CTRL)

Grupę stanowiło 41 pacjentów: 19 (46%) dziewcząt oraz 22 (54%) chłopców. Średnia wieku w momencie rozpoznania przeładowania organizmu żelazem wynosiła 11 lat i 7 miesięcy (min 2,0; max 19,4). Wszyscy chorzy zostali poddani procedurze HSCT. Wskazaniem do transplantacji było rozpoznanie choroby nowotworowej u 38 (93%) chorych, natomiast w 3 (7%) przypadkach były zaburzenia nienowotworowe: SCID, SAA, BDA.

Szczegółowe zestawienie rozpoznania choroby podstawowej zilustrowano na rycinie nr 10.



Rycina 10.

Rozpoznanie choroby podstawowej, będące wskazaniem do procedury HSCT w grupie CTRL.

ALL – acute lymphoblastic leukemia, ostra białaczka limfoblastyczna; AML – acute myeloblastic leukemia, ostra białaczka mieloblastyczna; MDS – myelodysplastic syndrome, zespół mielodysplastyczny; SAA – severe acquired aplastic anemia, ciężka anemia aplastyczna; BDA – Blackfan-Diamond anemia, anemia Blackfana-Diamonda; SCID – severe combined immunodeficiency syndrome, ciężki złożony niedobór odporności; NBL - neuroblastoma

U pacjentów z grupy kontrolnej na podstawie liczby przetoczonych transfuzji, klinicznych i laboratoryjnych wykładników stwierdzono przeładowanie organizmu żelazem. Nie otrzymali oni doustnego leczenia chelatującego żelazo z powodu niespełnienia kryteriów kwalifikacji do programu. W tej grupie chorych nie stosowano leczenia innymi chelatorami żelaza i nie realizowano też zabiegów upustów krwi.

Przyczyny niewłączenia terapii chelatującej preparatem deferazyroks

I. Wiek: < 2 r.ż. lub > 18 r.ż.

Czterech (~10%) pacjentów z grupy kontrolnej ukończyło 18 r.ż. w momencie rozpoznania IOL; u dwojga z nich ponadto zdiagnozowano ciężką niewydolność nerek.

II. Brak dostępności do programu lekowego

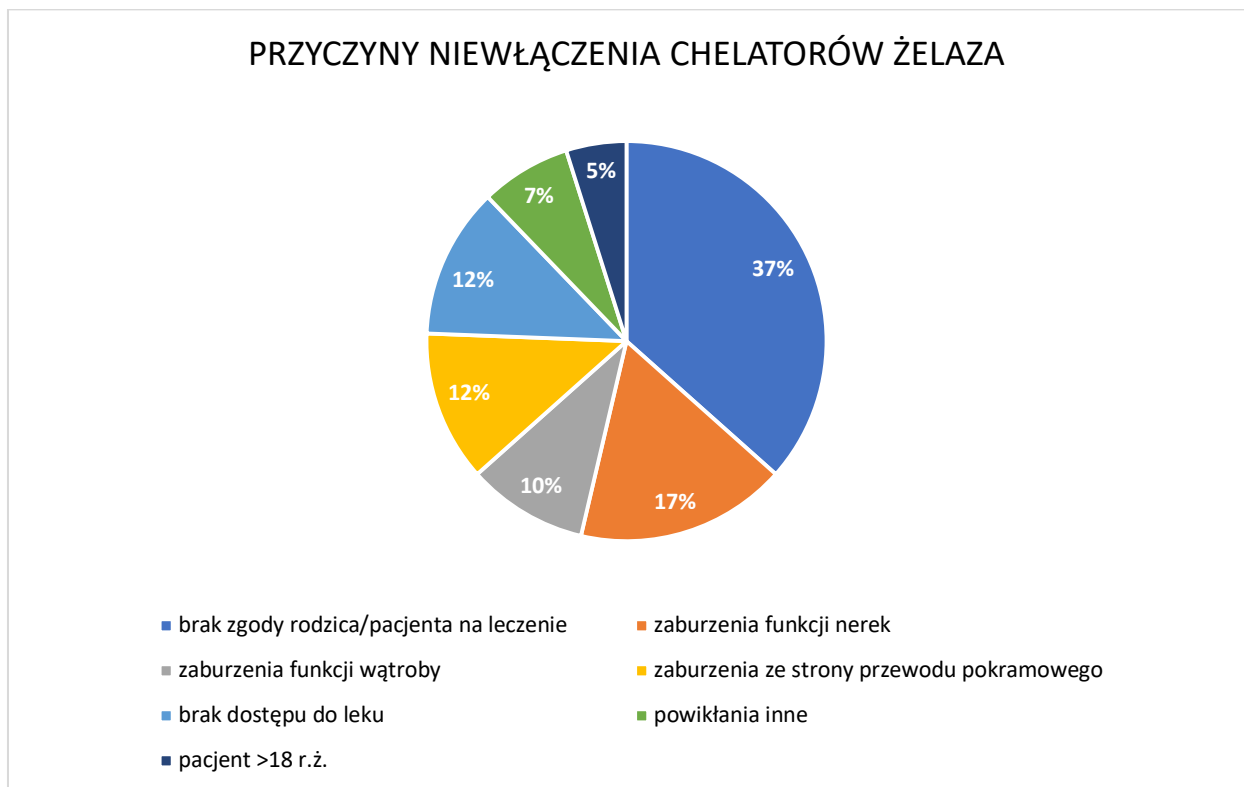
Program lekowy „Leczenie doustne nadmiaru żelaza w organizmie” został wprowadzony w Polsce w 2014 r., przed tym okresem preparat nie był refundowany, tym samym jego dostępność była ograniczona.

III. Brak zgody na leczenie chelatujące rodziców i/lub pacjentów po 16 r.ż.

U 15 chorych nie uzyskano pisemnej zgody na leczenie deferazyrokssem.

IV. Przeciwwskazania medyczne:

Preparatu nie podawano pacjentom w ciężkim stanie ogólnym. Wg CHPL nie był stosowany u chorych z niewydolnością nerek czy uszkodzeniem wątroby. Nie stosowano też preparatu u pacjentów z rozpoznaniem GvHD zwłaszcza z zajęciem przewodu pokarmowego.



Rycina 11.

Przyczyny niewłączenia terapii deferazyrokssem u pacjentów z grupy CTRL

Z analizy wyłączono pacjentów, którzy otrzymali jako jedyne leczenie chelatujące deferozasminę. U większości z tych chorych nie przestrzegano reżimu podawania preparatu. Historie hospitalizacji gromadzone były w wersji analogowej i część z nich była niedostępna do analizy. Z powodu braku rzetelnych danych tę grupę chorych wykluczono z badania. Z tych powodów nie dokonano analizy porównawczej pacjentów leczonych dwoma różnymi chelatorami żelaza: DFX vs .DFO.

3.2. Metody badawcze

3.2.1. Badania laboratoryjne

- I. Stężenie żelaza w surowicy oznaczano metodą kolorymetryczną na analizatorze AU 5800 firmy Beckman
Przyjęte normy dla metody: 50-120 µg/dl.
- II. Stężenie UIBC oznaczono metodą kolorymetryczną na analizatorze AU 5800 firmy Beckman, natomiast TIBC wyliczono na podstawie wzoru:
$$\text{TIBC} = \text{UIBC} + \text{stężenie żelaza}$$

Przyjęte normy dla metody:
UIBC: 155-300 µg/dl
TIBC: 250-400 µg/dl
- III. Stężenie ferrytyny oznaczano metodą immunoturbidymetryczną na analizatorze AU 5800 firmy Beckman
Przyjęte normy dla metody: 6-320 µg/dl
- IV. Stężenie transferyny oznaczano metodą immunoturbidymetryczną na analizatorze AU 5800 firmy Beckman
Przyjęte normy dla metody: 2-3,6 g/l

3.2.2. Badania obrazowe

- I. USG jamy brzusznej i tarczycy
U każdego z pacjentów wykonano rutynowe badanie USG jamy brzusznej z oznaczeniem pomiaru wątroby i śledziony oraz USG tarczycy.
Badania zrealizowano na aparacie firmy GE Logiq 8.

II. USG elastografia jamy brzusznej

USG elastografię SWE jamy brzusznej wykonano u 12 chorych. Dokonano oceny stopnia uszkodzenia narządów, czyli włóknienia wątroby wg skali Metavir. Wynik badania był średnią z 5 pomiarów wykonanych w różnych miejscach wątroby i wyrażony był w kPa (w kilopaskalach).

Wartości punktów odcięcia dla poszczególnych stopni w skali Metavir:

F0 – do 6,5 kPa; F1 – 6,5 -9,0 kPa; F2 9,1-10,8 kPa; F3 – 10,9-13,2 kPa; F4 > 13,3 kPa.

Badanie zrealizowano na aparacie GE Vivid.9.

III. MRI jamy brzusznej (sekwencja Gandona)

Do oszacowania całkowitej zawartości żelaza w wątrobie (LIC) stosowano sekwencję Gandona. Ustalono obszary w obrębie prawego płata wątroby nieobejmujące naczyń krwionośnych oraz tkankę prawych i lewych mięśni przykręgosłupowych. Oznaczone regiony stanowiły obszar zainteresowania (ROI – region of interest), w którym mierzono siłę sygnału (SIR).

Uzyskane dane wprowadzono do kalkulatora metody badawczej poniżej:

<http://www.radio.univ-rennes1.fr/Sources/EN/HemoCalc15.html>

Przyjętą normą dla metody było LIC < 36 $\mu\text{mol/g}$.

Badanie wykonano na aparacie 1,5 T Simens Avanto

Liver iron quantification by MRI (1.5 Tesla)

Patient:

Type in the mean values of MR signal given by ROIs, up to three for the liver and one or two for the paraspinal muscles. Do not put decimal values, measure is not so precise !

<i>TR / TE / PA*</i>	<i>Liver (1)</i>	<i>Liver (2)</i>	<i>Liver (3)</i>	<i>Muscle (1)</i>	<i>Muscle (2)</i>
<i>T1 : GRE 120 / 4 / 90°</i>	265	255	263	220	250
<i>PD : GRE 120 / 4 / 20°</i>	136	131	150	177	160
<i>T2 : GRE 120 / 9 / 20°</i>	54	45	51	150	141
<i>T2+ : GRE 120 / 14 / 20°</i>	17	17	18	123	115
<i>T2++ : GRE 120 / 21 / 20°</i>	13	11	11	92	89

Use Internet Explorer if this function is not working with your web browser

Results:

LIC calculated using T1 sequence: 120 $\mu\text{mol/g}$ (lack of sensitivity, value not accurate)
LIC calculated using PD sequence: 170 $\mu\text{mol/g}$
LIC calculated using T2 sequence: 140 $\mu\text{mol/g}$
LIC calculated using T2+ sequence: 120 $\mu\text{mol/g}$ (saturation with probably underestimation)
LIC calculated using T2++ sequence: 90 $\mu\text{mol/g}$ (saturation with probably underestimation)

LIC estimated using PD sequence: 170 (± 50) $\mu\text{mol/g}$ (N < 36 $\mu\text{mol/g}$)

Version: November 26, 2003

Rycina 12.

Kalkulator służący do obliczenia LIC

3.2.3. Powikłania w trakcie badania

U chorych przeprowadzono jakościową i ilościową ocenę powikłań po HSCT oraz w trakcie leczenia DFX czy obserwacji pacjentów obu grup. Obserwowane dolegliwości oraz zaburzenia parametrów laboratoryjnych oceniano w skali 1-4 wg CTCAE wersja 4.0 (CTCEA- Common Terminology Criteria for Adverse Events). GvHD oceniano w 1- 4 stopniowej skali ciężkości wg Glucksberga.

3.3. Analiza statystyczna

Analizę statystyczną uzyskanych wyników wykonano za pomocą programu Prism 5,0 (GraphPad, La Jolla, CA, USA).

W celu zbadania parametryczności analizowanych cech wykonano test Kołomogorowa-Smirnowa. Porównanie średnich pomiędzy dwiema badanymi grupami przeprowadzono za pomocą testu t-Studenta, natomiast w przypadku nieparametrycznego rozkładu zmiennych za pomocą testu Mann -Whitney'a.

Dla porównania różnic pomiędzy średnimi wartościami parametrów w czasie wykorzystano test analizy wariancji, a kolejno test post hoc Dunna, gdy rozkład cechy w grupach był parametryczny. Dla cech nieparametrycznych wykorzystano test Kruskalla – Wallisa z testem post hoc Bonferroniego.

Analiza korelacji została przeprowadzona przy pomocy testu korelacji Spearmana oraz Pearsona.

W celu wykreślenia krzywych regresji użyto testu Mantel-Cox.

Wszystkie rezultaty były uznawane za istotne statystycznie przy $p < 0,05$.

4. WYNIKI

Do badania zakwalifikowałam 82 pacjentów. W grupie DFX analizie poddałam 41 chorych, spośród których jednego pacjenta wykluczyłam z dalszej obserwacji. W grupie CTRL zbadałam 41 pacjentów i wszyscy zakończyli obserwację.

U chorych obu grup poddałam analizie parametry laboratoryjne przeładowania ustroju żelazem. U pacjentów z grupy DFX, którym włączyłam leczenie preparatem deferazyroks, dodatkowo zbadałam jego skuteczność i bezpieczeństwo terapii.

4.1. Parametry laboratoryjne gospodarki żelazem

4.1.1. Stężenia ferrytyny w okresie przed i poprzyszczepowym

W pierwszym etapie analizy statystycznej dokonałam oceny parametrów gospodarki żelazem przed i w momencie rozpoznania IOL. Oceeniłam stężenie ferrytyny (SF, serum ferritin) w trzech punktach czasowych u pacjentów grupy badanej (DFX) oraz kontrolnej (CTRL).

Pierwszego pomiaru SF dokonałam przed rozpoczęciem procedury przeszczepowej (I). Średnie stężenie wynosiło $2087 \pm 813 \mu\text{g/l}$.

Kolejnego oznaczenia SF dokonałam po zrealizowanym HSCT (II). Średni czas pomiaru SF od HSCT wynosił 28 dni. Średnie SF (pierwszy pomiar u pacjentów po HSCT) wynosił $5394 \pm 2563 \mu\text{g/l}$.

W momencie stwierdzenia IOL średnie SF (III) wyniosło $4492 \pm 2608 \mu\text{g/l}$. Dla grupy badanej (DFX) był to czas rozpoczęcia leczenia chelatującego. Średni czas oceny stężenia ferrytyny od HSCT wynosił 199 dni.

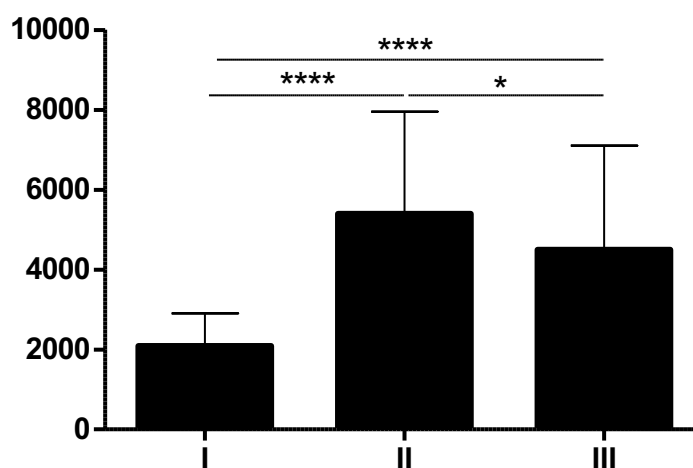
Tabela nr 8.

Stężenia ferrytyny u chorych grupy DFX przed i po HSCT

DFX	I	II	III
Liczba badanych (n)	41	40	41
Średnie stężenie ± SD (µg/l)	2087 ± 813,7	5394 ± 2563	4492 ± 2608
Stężenie minimalne (µg/l)	288	2066	2660
Stężenie maksymalne (µg/l)	3991	13309	17372

I – oznaczenie SF przed HSCT; II – pierwsze oznaczenie SF po HSCT; III – oznaczenie SF przed rozpoczęciem leczenia chelatującego

SF poddałam również analizie z wykorzystaniem testu Mann-Whitney'a (Rycina 13). Wykazałam istotne statystycznie różnice SF pomiędzy grupami I vs. II, I vs. III oraz II vs. III (odpowiednio $p < 0,00001$, $p < 0,00001$, oraz $p < 0,05$).



Rycina 13.

Średnie SF [µg/l] u chorych grupy DFX przed i po HSCT.

I – oznaczenie SF przed HSCT; II – pierwsze oznaczenie SF po HSCT; III – oznaczenie SF przed rozpoczęciem leczenia chelatującego; * $p < 0,05$, **** $p < 0,00001$

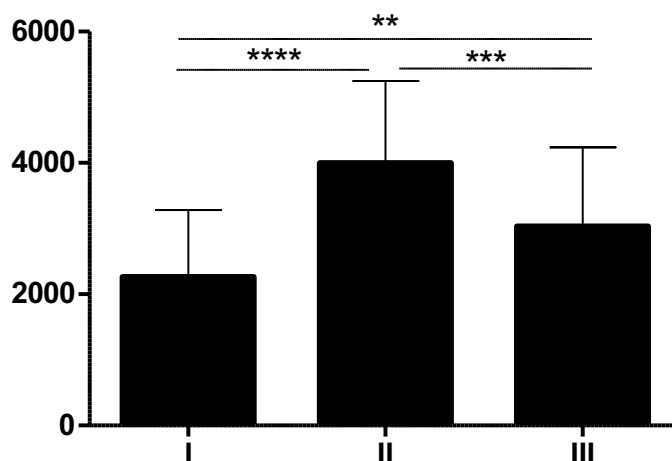
Oceny SF dokonałam analogicznie u chorych grupy kontrolnej (CTRL). Przed rozpoczęciem procedury przeszczepowej (I) SF wynosiło $2262 \pm 1019 \mu\text{g/l}$. W pierwszym oznaczeniu po zrealizowanym HSCT (II) średnie SF wynosiło $3998 \pm 1250 \mu\text{g/l}$. Średni czas pomiaru SF po HSCT wynosił 47 dni. W momencie stwierdzenia IOL (III) średnia SF wynosiła $2999 \pm 1207 \mu\text{g/l}$. Średni czas oznaczenia od HSCT wyniósł 233 dni. Wartości liczbowe przedstawiłam w tabeli nr 9.

Tabela 9.
SF u chorych grupy CTRL przed i po HSCT

CTRL	I	II	III
Liczba badanych (n)	41	41	41
Średnie stężenia \pm SD ($\mu\text{g/l}$)	2262 ± 1019	3998 ± 1250	2999 ± 1207
Stężenia minimalne ($\mu\text{g/l}$)	760	1931	1344
Stężenia maksymalne ($\mu\text{g/l}$)	4698	6834	6722

I – oznaczenie SF przed HSCT; II – pierwsze oznaczenie SF po HSCT; III – oznaczenie SF przed rozpoczęciem leczenia chelatującego;

SF poddałam również analizie z wykorzystaniem testu Mann-Whitney'a (Rycina 14). Wykazałam istotne statystycznie różnice stężeń pomiędzy grupami I vs. II, I vs. III oraz II vs. III (odpowiednio $p < 0,00001$, $p < 0,001$, oraz $p < 0,05$).

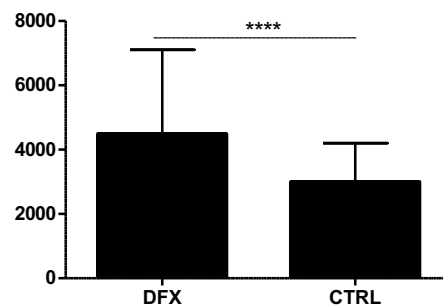


Rycina 14.
Średnie SF [$\mu\text{g/l}$] u chorych grupy CTRL przed i po HSCT
I – oznaczenie SF przed HSCT; II – pierwsze oznaczenie SF po HSCT; III – oznaczenie SF przed rozpoczęciem leczenia chelatującego. ** $p < 0,001$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,00001$

4.1.2. Parametry laboratoryjne gospodarki żelazem przy stwierdzeniu IOL

4.1.2.1. Stężenie ferrytyny

W momencie rozpoznania IOL średnie SF w grupie DFX wynosiło $4492 \pm 2608 \mu\text{g/l}$, natomiast w grupie CTRL $2999 \pm 1207 \mu\text{g/l}$. Średni czas oznaczenia wynosił odpowiednio 199 i 233 dni od HSCT. Z wykorzystaniem testu Mann-Whitney'a stwierdziłam istotne statystycznie różnice w SF pomiędzy grupami DFX vs. CTRL ($p < 0,0001$).

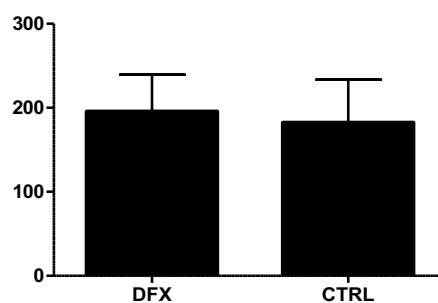


Rycina 15.

Średnie SF [$\mu\text{g/l}$] u chorych grupy DFX i CTRL w momencie rozpoznania IOL. **** $p < 0,00001$

4.1.2.2. Stężenie żelaza

W momencie rozpoznania IOL średnie stężenie żelaza w grupie DFX wynosiło $195 \pm 44 \mu\text{g/dl}$, natomiast w grupie CTRL $182 \pm 51 \mu\text{g/dl}$. Z wykorzystaniem testu Mann-Whitney'a nie stwierdziłam istotnych statystycznie różnic w stężeniach żelaza pomiędzy grupami DFX vs. CTRL ($p = 0,492$).

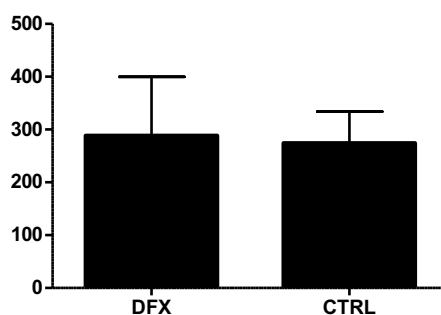


Rycina 16.

Średnie stężenia żelaza [$\mu\text{g/dl}$] u chorych grupy DFX i CTRL w momencie rozpoznania IOL

4.1.2.3. Stężenie TIBC

W momencie rozpoznania IOL średnie stężenie TIBC w grupie DFX wynosiło $274 \pm 59,6$ $\mu\text{g/dl}$, natomiast w grupie CTRL 288 ± 111 $\mu\text{g/dl}$. Z wykorzystaniem testu Mann-Whitney'a nie stwierdziłam istotnych statystycznie różnic w stężeniach TIBC pomiędzy grupami DFX vs. CTRL ($p = 0,8284$).

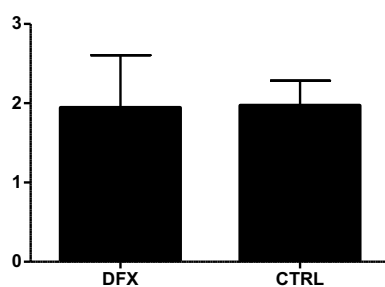


Rycina 17.

Średnie stężenia TIBC [$\mu\text{g/dl}$] u chorych grupy DFX i CTRL w momencie rozpoznania IOL

4.1.2.4. Stężenie transferyny

W momencie rozpoznania IOL średnie stężenie transferyny w grupie DFX wynosiło $1,95 \pm 0,66$ g/l, natomiast w grupie CTRL $1,97 \pm 0,331$ g/l. Z wykorzystaniem testu Mann-Whitney'a nie stwierdziłam istotnych statystycznie różnic w stężeniach transferyny pomiędzy grupami DFX vs. CTRL ($p = 0,7863$).



Rycina 18.

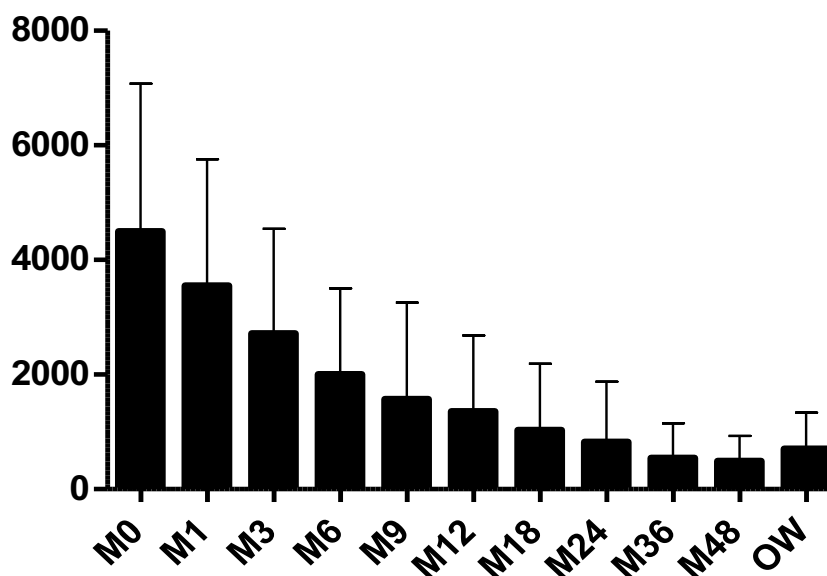
Średnie stężenia transferyny [g/l] u chorych grupy DFX i CTRL w momencie rozpoznania IOL

Dodatkowo zbadalam czy SF przy stwierdzeniu IOL koreluje z pozostałymi parametrami gospodarki żelazem tj. stężeniem żelaza, TIBC oraz transferyny. Testem korelacji Spearmana wykazałam dodatnią zależność między SF, a stężeniem żelaza ($r = -0,418$, $p = 0,033$). Stwierdziłam brak zależności między SF, a stężeniem TIBC ($r = -0,016$, $p = 0,91$) oraz ($r = 0,027$, $p = 0,89$).

4.1.3. Parametry laboratoryjne gospodarki żelazem – dynamika zmian stężeń ferrytyny

4.1.3.1. Stężenia ferrytyny w grupie DFX

Przy użyciu nieparametrycznego testu Dunna oceniłam różnice w SF w grupie DFX w licznych punktach czasowych. Wykazałam występowanie istotnych statystycznie różnic w SF pomiędzy punktami M0 vs. M6 ($p < 0,0001$), oraz kolejno M0 vs. M9, M0 vs. M12, M0 vs. M24, M0 vs. M36, M0 vs. M48 oraz M0 vs. OW ($p < 0,0001$ dla wszystkich). Zależność wskazywała na ewidentny, dynamiczny spadek SF od 6. miesiąca obserwacji. Po przekroczeniu punktu M9 nie zaobserwowałam istotnych statystycznie spadków stężeń ferrytyny w odniesieniu do pozostałych analizowanych punktów czasowych (rycina 19).



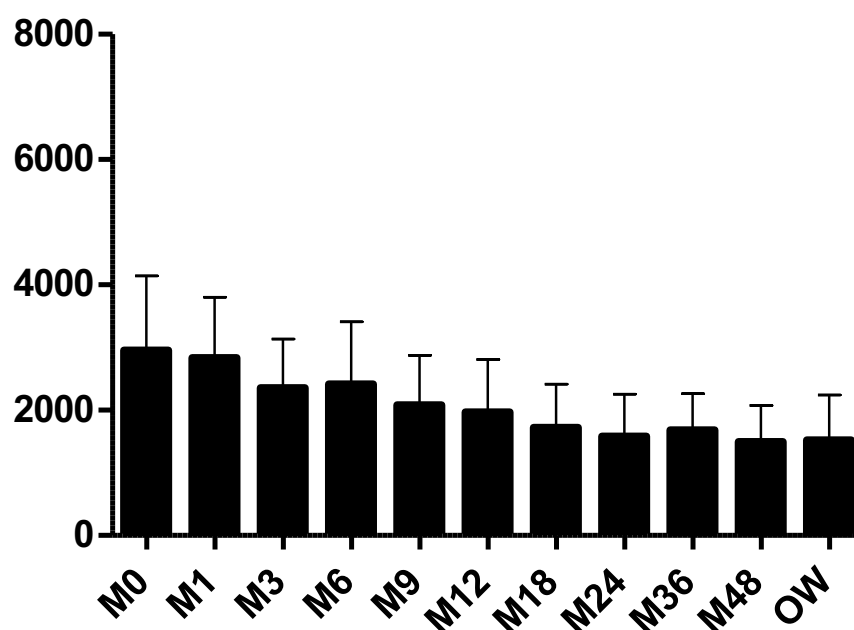
Rycina 19.

Średnie SF [µg/l] w określonych punktach czasowych w grupie DFX

M0 – moment rozpoznania IOL i rozpoczęcia leczenia chelatującego; M1-M48 – oznaczenia w poszczególnych miesiącach obserwacji; OW – ostatnia wizyta pacjenta w ośrodku przeszczepowym

4.1.3.2. Stężenia ferrytyny w grupie CTRL

Przy użyciu nieparametrycznego testu Dunna oceniłam różnice w stężeniach ferrytyny w grupie CTRL w licznych punktach czasowych. Wykazałam występowanie istotnych statystycznie różnic w SF pomiędzy punktami M0 vs. M9 ($p < 0,05$), oraz kolejno M0 vs. M12 ($p < 0,001$), M0 vs. M24 ($p < 0,0001$), M0 vs. M36 ($p < 0,001$), M0 vs. M48 ($p < 0,0001$) oraz M0 vs. OW ($p < 0,0001$). Zależność wskazywała na widoczny spadek SF dopiero od 9 miesiąca obserwacji. Po przekroczeniu punktu M9 nie zaobserwowałam istotnych statystycznie spadków SF w odniesieniu do pozostałych analizowanych punktów czasowych (rycina 20).



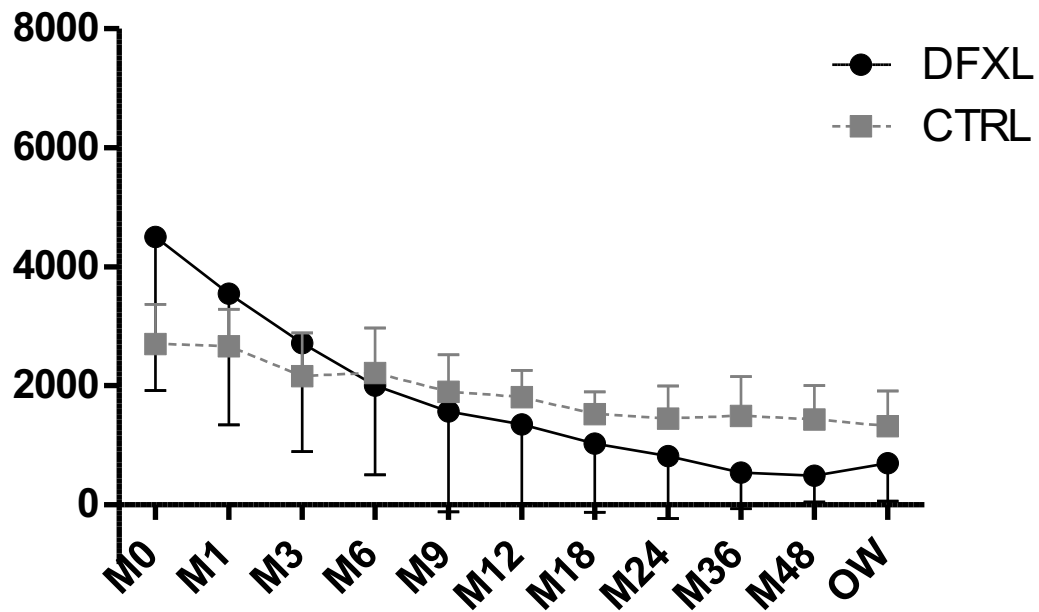
Rycina 20.

Średnie SF [$\mu\text{g/l}$] w określonych punktach czasowych w grupie CTRL

M0 – moment rozpoznania IOL; M1-M48 – oznaczenia w poszczególnych miesiącach obserwacji; OW – ostatnia wizyta pacjenta w ośrodku przeszczepowym

4.1.3.3. Stężenia ferrytyny w obu badanych grupach

W celu zobrazowania dynamiki zmian zaprezentowałam średnie SF w określonych punktach czasowych w grupie DFX i CTRL na jednym wykresie.



Rycina 21.

Dynamika zmian stężenia ferrytyny [$\mu\text{g/l}$] w obserwowanym czasie w obu grupach DFX i CTRL
M0 – moment rozpoznania IOL; M1-M48 – oznaczenia w poszczególnych miesiącach obserwacji; OW – ostatnia wizyta pacjenta w ośrodku przeszczepowym

4.1.4. Parametry laboratoryjne gospodarki żelazem w momencie zakończenia obserwacji

4.1.4.1. Stężenie ferrytyny na początku i na końcu obserwacji

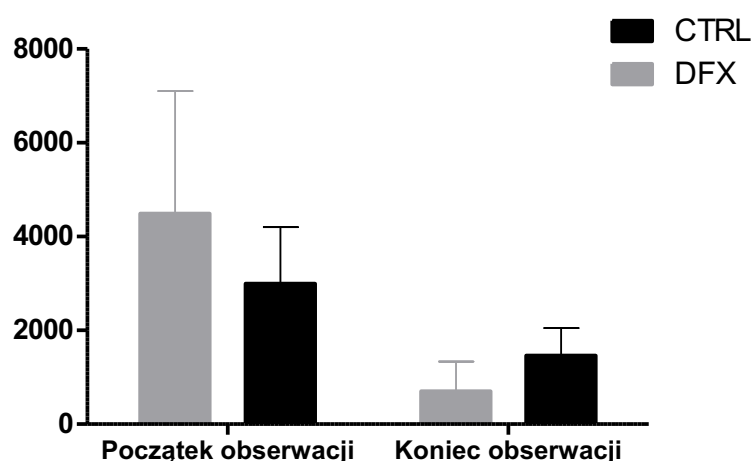
Dokonałam oceny SF przy zakończeniu obserwacji pacjentów obu grup (DFX i CTRL). Porównałam średnie wartości SF na początku i na końcu obserwacji chorych, co było tożsame z zakończeniem leczenia chelatującego w grupie DFX. Wartości liczbowe zestawiałam w tabeli nr 10.

Tabela 10.

Stężenie ferrytyny [$\mu\text{g/l}$] na początku (PO) i końcu obserwacji (KO) u chorych obu grup

	DFX	CTRL	DFX	CTRL
	Początek obserwacji		Koniec obserwacji	
Liczba badanych (n)	41	41	40	41
Średnie stężenia \pm SD ($\mu\text{g/l}$)	4492 \pm 2806	2999 \pm 1207	700 \pm 638	1464 \pm 585
Stężenia minimalne ($\mu\text{g/l}$)	1660	1344	633	308
Stężenia maksymalne ($\mu\text{g/l}$)	17327	6722	4106	3350

Z wykorzystaniem testu Mann-Whitney'a oceniłam zależności pomiędzy analizowanymi grupami. Stwierdziłam obecność istotnych statystycznie różnic w SF pomiędzy grupami DFX PO vs. CTRL PO, DFX KO vs. CTRL KO, DFX PO vs. DFX KO oraz CTRL PO vs. CTRL KO ($p < 0,0001$ dla wszystkich).



Rycina 22.

Stężenie ferrytyny w [$\mu\text{g/l}$] na początku i na końcu obserwacji u chorych obu grup

4.1.4.2. Stężenie żelaza na początku i na końcu obserwacji

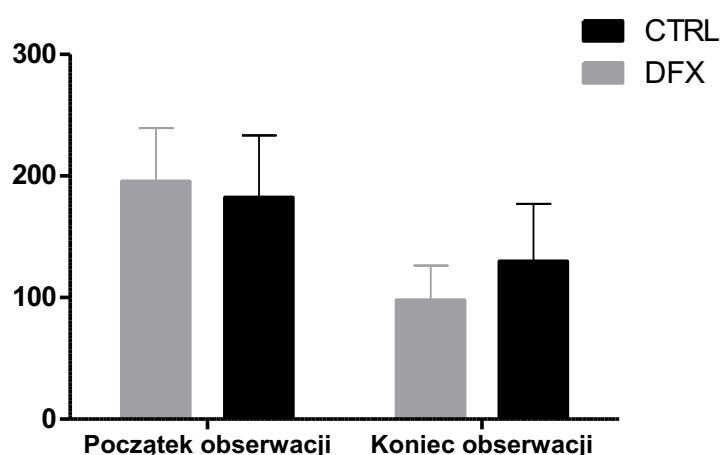
Dokonałam oceny stężenia żelaza przy zakończeniu obserwacji pacjentów obu grup (DFX i CTRL). Porównałam średnie wartości stężeń żelaza przy stwierdzeniu IOL i przy zakończeniu obserwacji chorych, co było tożsame z zakończeniem leczenia chelatującego w grupie DFX. Wartości liczbowe zestawiałam w tabeli nr 11.

Tabela 11.

Stężenie żelaza [$\mu\text{g}/\text{dl}$] na początku i końcu obserwacji chorych. Początek obserwacji (PO) oraz zakończenie obserwacji (KO)

	DFX	CTRL	DFX	CTRL
	Początek obserwacji		Koniec obserwacji	
Liczba badanych (n)	41	41	39	31
Średnie stężenia \pm SD ($\mu\text{g}/\text{l}$)	195,6 \pm 43,9	182 \pm 51	97 \pm 28	129,8 \pm 47,4
Stężenia minimalne ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	107	82	25	47
Stężenia maksymalne ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	277	353	157	249

Z wykorzystaniem testu Mann-Whitney'a oceniłam zależności pomiędzy analizowanymi grupami. Stwierdziłam brak istotnych statystycznie różnic w stężeniach żelaza pomiędzy grupami DFX PO vs. CTRL PO ($p = 0,1492$), natomiast stwierdziłam obecność istotnych statystycznie w stężeniach żelaza pomiędzy grupami: DFX KO vs. CTRL KO ($p = 0,0013$), DFX PO vs. DFX KO ($p < 0,0001$) oraz CTRL PO vs. CTRL KO ($p < 0,0001$).

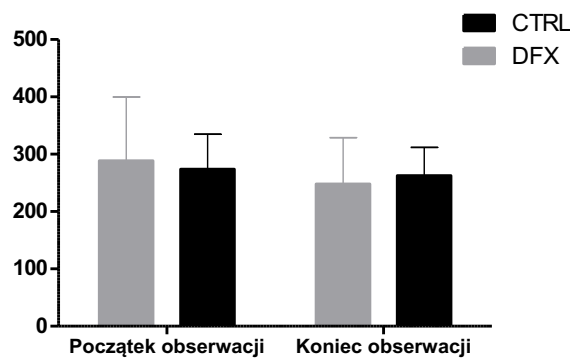


Rycina 23.

Średnie stężenia żelaza [$\mu\text{g}/\text{dl}$] na początku i końcu obserwacji u chorych obu grupach.

4.1.5. Stężenie TIBC na początku i końcu obserwacji

Dokonałam oceny stężenia TIBC na początku i końcu obserwacji pacjentów obu grup. Z wykorzystaniem testu Mann-Whitney'a stwierdziłam brak istotnych statystycznie różnic w stężeniach TIBC pomiędzy grupami DFX PO vs. CTRL PO ($p = 0,8311$), DFX KO vs. CTRL KO ($p = 0,9237$), DFX PO vs. DFX KO ($p = 0,2477$) oraz CTRL PO vs. CTRL KO ($p = 0,355$).

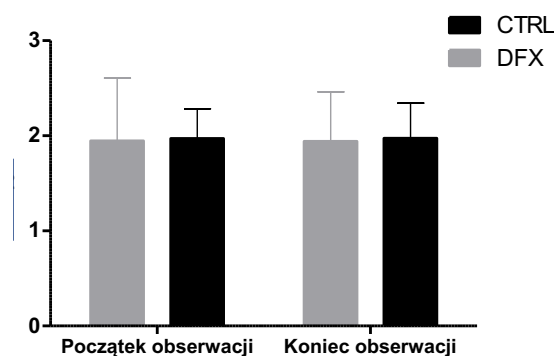


Rycina 24.

Średnie stężenie TIBC w [µg/dl] na początku i na końcu obserwacji obu grup. Początek obserwacji (PO) oraz zakończenie obserwacji (KO).

4.1.6. Stężenie transferyny na początku i na końcu obserwacji

Dokonałam oceny stężenia transferyny na początku i końcu obserwacji pacjentów obu grup. Z wykorzystaniem testu Mann-Whitney'a stwierdziłam brak istotnych statystycznie różnic w stężeniach transferyny pomiędzy grupami DFX PO vs. CTRL PO ($p=0,7663$), DFX KO vs. CTRL KO ($p=1$), DFX PO vs. DFX KO ($p=0,8919$) oraz CTRL PO vs. CTRL KO ($p=1$).



Rycina 25.

Stężenie transferyny w [g/dl] na początku i na końcu obserwacji obu grup. Początek obserwacji (PO) oraz zakończenie obserwacji (KO).

4.2. Analiza ilości przetoczonych KKCz i jej wpływ na parametry gospodarki żelazem

Poddałam analizie ilość przetoczonych KKCz w trakcie leczenia, zrealizowanych zarówno przed jak i po HSCT. Oceny w grupie DFX i CTRL dokonałam w jednostkach oraz w ml/kg m.c.

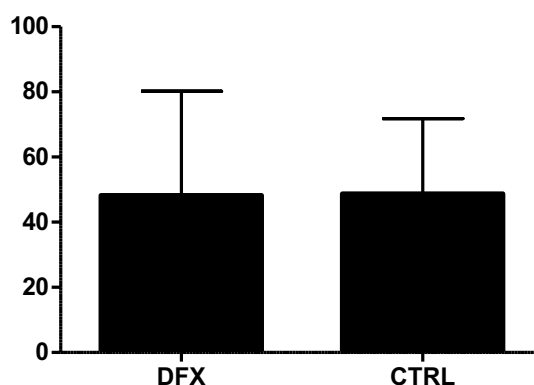
W grupie DFX średnio przetoczono 48 j. KKCz. Jedynie u jednego z pacjentów przetoczono < 20 j. w ciągu całego toku leczenia. W grupie CTRL średnio podano 44 j. KKCz. 5 pacjentów wykluczono z analizy w grupie CTRL, gdyż nie uzyskano kompletnych danych dotyczących liczby transfuzji KKCz.

Tabela 12.

Zestawienie średniej liczby [j] zrealizowanych przetoczeń KKCz w obu grupach pacjentów (n=77)

	Całkowita liczba transfuzji KKCz [j] DFX	Całkowita liczba transfuzji KKCz [j] CTRL
Liczba badanych (n)	41	36
Średnia liczba ± SD (j.)	48 ± 32	44 ± 24,7
Minimalna liczba KKCz	15	21
Maksymalna liczba KKCz	137	113

Z wykorzystaniem testu Mann-Whitney'a stwierdziłam brak istotnych statystycznie różnic w średniej liczbie transfuzji KKCz pomiędzy grupami DFX vs. CTRL (p=0.7210).



Rycina 26

Średnia liczba transfuzji KKCz [j.] w grupie DFX oraz CTRL (n=77)

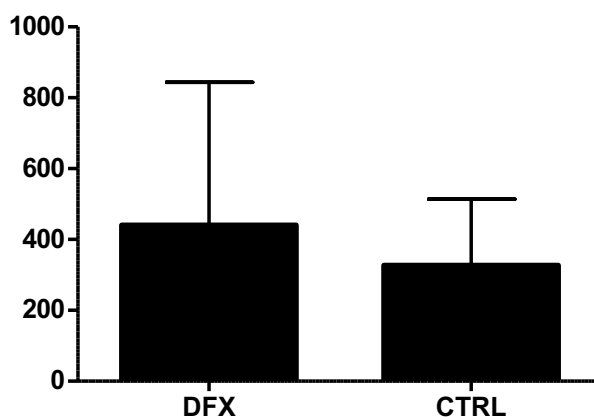
W grupie DFX średnia zrealizowanych transfuzji wyniosła $440,1 \pm 403,7$ ml/kg m.c. Jedynie u jednego z pacjentów przetoczono < 100 ml/kg m.c. w ciągu całego toku leczenia. W grupie CTRL średnio zrealizowano $324,2 \pm 183$ ml/kg m.c. W grupie CTRL 5 pacjentów wykluczyłam z analizy, gdyż nie uzyskałam kompletnych danych dotyczących liczby transfuzji KKCz.

Tabela 13.

Zestawienie ilość [ml/kg m.c.] zrealizowanych przetoczeń KKCz w obu grupach pacjentów (n=77)

	Całkowita ilość transfuzji [ml/kg mc] DFX	Całkowita ilość transfuzji [ml/kg mc] CTRL
Liczba badanych (n)	41	36
Średnia ilość \pm SD (ml/kg m.c.)	$440,1 \pm 403,7$	$324,2 \pm 183,8$
Minimalna ilość KKCz	96	106
Maksymalna ilość KKCz	2272	906

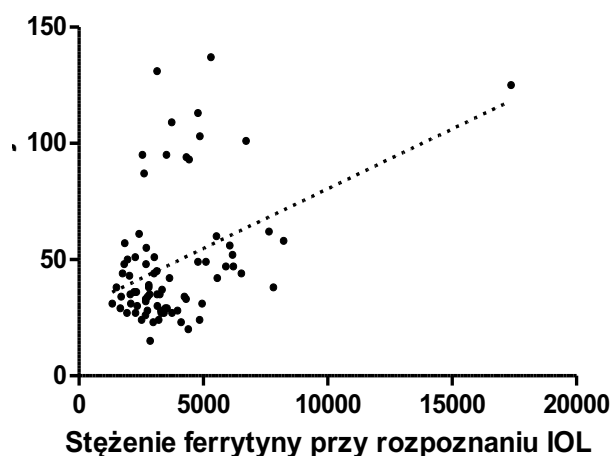
Z wykorzystaniem testu Mann-Whitney'a stwierdziłam brak istotnych statystycznie różnic w średnich ilości transfuzji KKCz pomiędzy grupami DFX vs. CTRL ($p = 0,3529$).



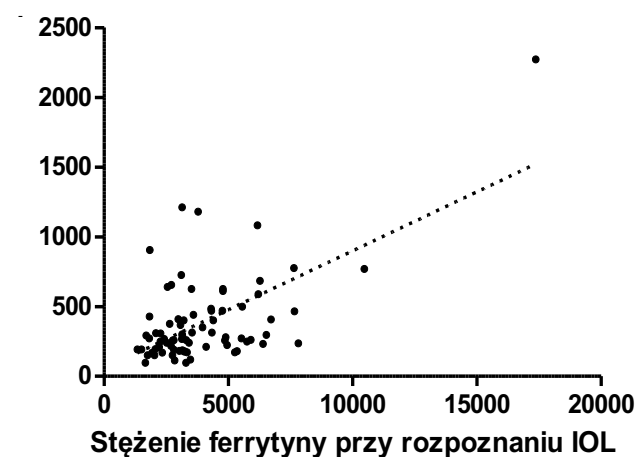
Rycina 27.

Średnia ilość transfuzji KKCz w [ml/kg m.c.] w grupie DFX oraz CTRL

Analizie poddałam wpływ zrealizowanych transfuzji KKCz w toku leczenia na SF przy stwierdzeniu IOL. Za pomocą testu korelacji Spearmana stwierdziłam istotną statystycznie dodatnią korelację SF w odniesieniu do liczby transfuzji mierzonej w j. ($r = 0.2673$, $p = 0.018$) oraz w ml/kg m.c. ($r = 0.3609$, $p = 0.0013$).

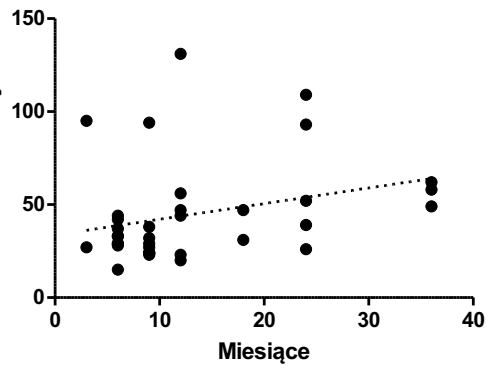


Rycina 28.
Wykres korelacji liczby transfuzji KKCz [j.] ze SF w momencie stwierdzenia IOL u pacjentów grupy DFX oraz CTRL, n=77



Rycina 29.
Wykres korelacji ilości transfuzji KKCz [ml/kg m.c.] ze SF w momencie stwierdzenia IOL u pacjentów grupy DFX oraz CTRL, n=77

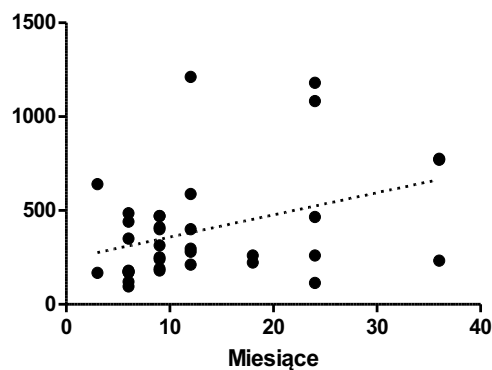
Dodatkowo w oparciu o posiadane dane poddałam analizie wpływ transfuzji KKCz na czas, w którym stwierdziłam docelowe osiągnięcia SF < 1000 µg/l.



Rycina 30.

Wykres korelacji liczby transfuzji KKCz [j.] na czas, w którym stwierdzono docelowe osiągnięcia SF < 1000 µg/l w grupie DFX

Z wykorzystaniem testu korelacji Spearmana uzyskałam istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy liczbą zrealizowanych transfuzji [j.] a czasem [miesiące], w którym u pacjentów obserwowałam spadek SF < 1000 µg/l ($r = 0,3575$, $p = 0,0323$).



Rycina 31.

Wykres korelacji ilości transfuzji KKCz [ml/kg m.c.] na czas, w którym stwierdzono docelowe osiągnięcia SF < 1000 µg/l w grupie DFX.

Z wykorzystaniem testu korelacji Spearmana uzyskałam istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy liczbą zrealizowanych transfuzji [ml/kg m.c.], a czasem [miesiące], w którym u pacjentów obserwowałam spadek SF < 1000 µg/l ($r = 0,3710$, $p = 0,0259$).

W grupie CTRL jedynie 7 chorych osiągnęło docelowy SF < 1000 µg/l, co uniemożliwiło wykonanie analogicznej analizy

4.3. Czynniki wpływające na stężenie ferrytyny w czasie obserwacji pacjentów obu grup

➤ **czas od HSCT**

Przy użyciu testu korelacji Spearmana stwierdziłam, że zarówno w grupie DFX, jak i CTRL, czas po zrealizowanym HSCT nie wpłynął na SF w momencie rozpoznania IOL.

($r = -0,035$, $p = 0,826$).

➤ **wiek**

Przy użyciu testu korelacji Spearmana stwierdziłam, że zarówno w grupie DFX, jak i CTRL, wiek nie wpłynął na SF w momencie rozpoznania IOL ($r = -0,140$, $p = 0,381$).

➤ **masa ciała**

Przy użyciu testu korelacji Spearmana stwierdziłam, że zarówno w grupie DFX, jak i CTRL, masa ciała nie wpłynęła na SF w momencie rozpoznania IOL ($r = -0,206$, $p = 0,196$).

➤ **pleć**

Przy użyciu testu Manna Whitney'a stwierdziłam, że zarówno w grupie DFX, jak i CTRL, masa ciała nie wpłynęła na SF w momencie rozpoznania IOL ($p = 0,8754$).

Tabela 14.

Zestawienie czynników wpływających na przejściowy wzrost SF w czasie obserwacji pacjentów obu grup

	Wzrost ferrytyny nie n (%)	Wzrost ferrytyny tak n (%)	Test stat.	p-value
Razem	21 (26)	61 (74)		
Infekcja			Chisq	0.195
nie	12 (57)	23 (38)	Fisher's exact test	0.134
tak	9 (43)	38 (62)		
GvHD			Chisq	0.009
nie	18 (86)	36 (59)	Fisher's exact test	0.004
tak	3 (14)	25 (41)		
Transfuzje			Chisq	0.016
Nie	18 (86)	37 (61)	Fisher's exact test	0.018
Tak	3 (14)	24 (39)		

Z zastosowaniem testów chi-2 i Fishera do sprawdzenia czy wystąpienie poszczególnych czynników wpływa na przejściowy wzrost SF. Zaobserwowałam wpływ wystąpienia GvHD oraz dodatkowych transfuzji KKCz na wzrost SF. Wśród pacjentów, u których zaobserwowałam wzrost SF odsetek tych, którzy mieli GvHD oraz dodatkowe transfuzje KKCz jest statystycznie istotnie większy w porównaniu do pacjentów, u których nie zaobserwowałam wzrostu SF.

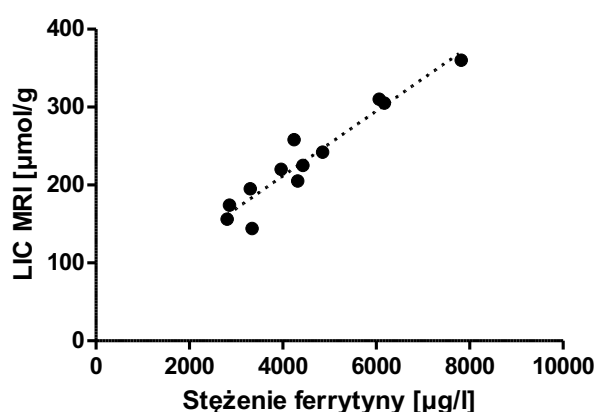
4.4. Badania obrazowe w diagnostyce IOL

U 12 (29%) chorych z grupy DFX wykonałam badania obrazowe jamy brzusznej: MRI metodą Gandona oraz USG elastografię w celu oceny LIC. Jednocześnie uwzględniłam w analizie parametry laboratoryjne gospodarki żelazem (SF) oraz dane kliniczne.

Tabela 15.

Zestawienie wyników badań laboratoryjnych oraz obrazowych pacjentów grupy DFX w momencie rozpoznania IOL

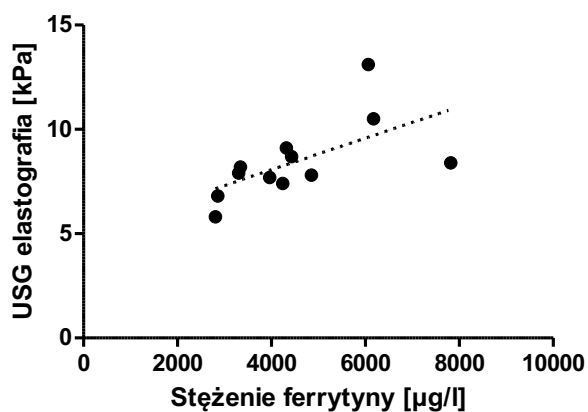
Lp	Inicjały chorego	Stężenie ferrytyny [µg/l]	Ilość KKCz [j]	Ilość KKCz [ml/kg/d]	LIC MRI [µmol/g]	USG elastografia [kPa]	Czas badania [dni od HSCT]
1	D.G.	4240	26	114	258	7,4	227
2	S.B.	4852	24	181	242	7,8	131
3	P.R.	3342	27	259	144	8,2	119
4	A.M.	4322	94	470	205	9,1	351
5	M.J.	3963	20	400	220	7,7	211
6	D.H.	2806	29	96	156	5,8	169
7	O.S.	2857	15	177	174	6,8	132
8	B.P.	3302	27	259	195	7,9	83
9	A.S.	7822	38	237	360	8,4	103
10	J.G.	4433	47	770	225	8,7	123
11	J.L.	6065	34	314	310	13,1	96
12	A.G.	6177	52	1083	305	10,5	110



Rycina 32.

Wykres korelacji LIC w MRI [µmol/g] z SF [µg/l]

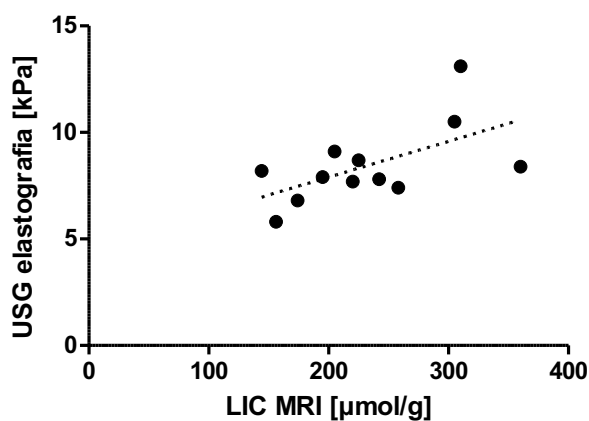
Testem Pearsona wykazałam silną, dodatnią korelacją między LIC w MRI [µmol/g], a SF [µg/l] ($r = 0,9566$, $p < 0,0001$).



Rycina 33.

Wykres korelacji USG elastografii [kPa] z SF [µg/l].

Testem Pearsona wykazałam dodatnią korelację między USG elastografią jamy brzusznej [µmol/g] z SF [µg/l] ($r = 0,6108$, $p = 0,0349$).



Rycina 34.

Wykres korelacji USG elastografii [kPa] z LIC w MRI [µg/l]

Testem Pearsona wykazałam dodatnią korelację między USG elastografią [µmol/g] z LIC w MRI [µg/l] ($r = 0,5910$, $p = 0,0430$).

4.5. Analiza terapii deferyazyrokssem u pacjentów grupy DFX

4.5.1. Dawkowanie deferyazyroksu

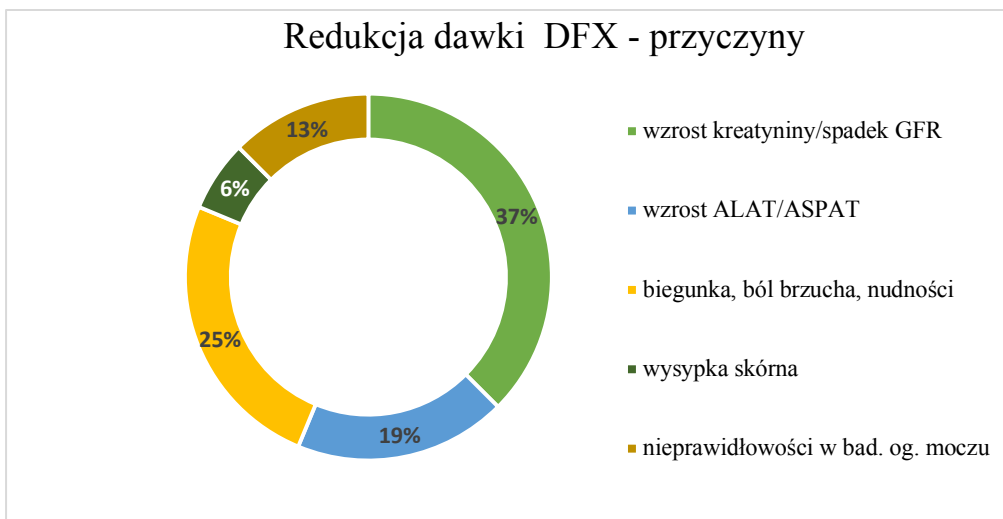
Średnia dawka deferyazyroksu w całym toku leczenia w grupie DFX wyniosła $15,4 \pm 3,87$ mg/kg m.c./dobę (min 8 mg; max 21,3 mg). Dawkę < 10 mg/kg m.c./dobę otrzymało 8 (20%) pacjentów; 10-20 mg/kg m.c. – 31 (76%); > 20 mg/kg m.c./dobę - 2 (4%) chorych.

4.5.2. Modyfikacja dawkowania deferyazyroksu

Dawkowanie dostosowałam do stopnia przeładowania żelazem, wyjściowego stężenia ferrytyny oraz zmiany masy ciała. Pod uwagę wzięłam postać farmaceutyczną tabletek: 125 mg, 250 mg, 500 mg.

Modyfikowałam dawkę leku na podstawie obserwacji zmian SF i/lub wystąpienia działań niepożądanych prowadzonej terapii. Najczęściej regulowałam dawkę o 50% w stosunku do jej wartości początkowej. Zwiększałam dawkę leku, gdy nie odnotowałam spadku SF w ciągu 3 miesięcy obserwacji, co miało miejsce u 2 (4%) pacjentów. U żadnego dziecka nie przekroczono dawki dobowej 30 mg/kg m.c. Redukowałam dawkę u chorych, u których zaobserwowałam objawy nietolerancji lub zaburzenia parametrów laboratoryjnych, co miało miejsce u 21 (51%) dzieci. Łącznie u 22 (54%) pacjentów odnotowałam przerwę w leczeniu, z czego u 13 (31%) chorych odstawiłam czasowo preparat po wcześniejszej nieskutecznej redukcji dawki. 9 (21%) dzieci wymagało pilnego odstawienia leku, gdy odnotowałam działania niepożądane.

Na rycinach 34 i 35 przedstawiłam przyczyny redukcji dawki i przejściowego odstawienia preparatu.



Rycina 35.
Przyczyny redukcji dawki deferazyroksu w toku leczenia



Rycina 36.
Przyczyny odstawienia deferazyroksu w toku leczenia

4.5.3. Czas terapii

Średni czas terapii wynosił 441 dni. Biorąc pod uwagę przerwę w terapii preparat był podawany średnio 407 (min 105; max 1040) dni.

4.5.4. Działania niepożądane

Tabela 16.

Zestawienie działań niepożądanych w trakcie terapii deferyzyroksem

Działania niepożądane AE	N=41	N %	CTCAE 1	CTCAE 2	CTCAE 3	CTCAE 4	SAE	Redukcja dawki	Przerwa w terapii
Wzrost stężenia kreatyniny	12	29	11	1	0	0	0	5	5
Spadek GFR	7	17	6	1	0	0	0	6	1
Wzrost ALAT/ASPAT	16	39	4	9	3	0	0	6	9
Nieprawidłowości w BOM	5	12	3	1	1	0	0	1	1
Ból brzucha	15	36	12	3	0	0	0	5	4
Biegunka, nudności, wymioty	7 2 1	24	5	1	1	0	0	4	2
Wysypka skórna	1	2	0	1	0	0	0	0	1
Inne – obrzęki stawów	2	5	0	2	0	0	0	0	2
Inne – wzrost RR	1	2	0	1	0	0	0	0	1

AE – adverse event, działania niepożądane; SAE – severe adverse event, ciężkie działania niepożądane; CTCAE – Common Terminology Criteria for Adverse Events,

U 29 (70%) pacjentów stwierdziłam działania niepożądane deferyzyroksu, z czego odnotowano łącznie 69 epizodów.

Najczęściej obserwowałam wzrost ALAT, ASPAT u 16 (39%) dzieci. Wzrost ALAT lub ASPAT powyżej 5xN wystąpił u 3 (7%) dzieci, co było wskazaniem do przerywania terapii. U pacjentów, u których odnotowałam wzrost transaminaz wątrobowych nie wystąpił wzrost, ani bilirubiny, ani GGTP. U 12 (29%) chorych wystąpiły zaburzenia funkcji nerek rozumiane jako wzrost stężenia kreatyniny w dwóch niezależnych pomiarach. U 7 (17%) z nich zauważyłam przejściowy spadek GFR < 90 ml/min, u żadnego z chorych nie zaobserwowałam GFR < 60 ml/min. U 5 (12%) wystąpiły nieprawidłowości w badaniu ogólnym moczu, z czego u wszystkich obecna była proteinuria, a u 3 dzieci stwierdziłam nieprawidłowe uwalnianie fosforanów, szczawianów i glikozurię.

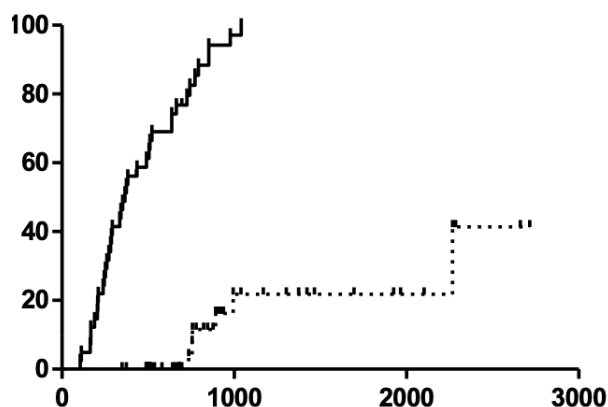
Najczęściej zgłaszanymi przez pacjentów dolegliwościami były bóle brzucha (n=15; 36%) o łagodnym lub umiarkowanym przebiegu oraz biegunka (n=7; 17%). Nudności i wymioty wystąpiły jedynie u 2 pacjentów. U 1 chorego zaobserwowałam wysypkę skórą o

charakterze alergiczno-toksycznym, a u 2 chorych obrzęki stawów kończyn górnych i dolnych, które ustąpiły po odstawieniu leku.

Wszystkie zgłoszone działania niepożądane oceniłam wg skali CTCAE. Zaburzenia miały charakter przejściowy i po zredukowaniu dawki leku, bądź czasowym odstawieniu zaobserwowałam normalizację parametrów laboratoryjnych i poprawę stanu klinicznego. U żadnego z chorych nie odnotowałam ciężkiego, zagrażającego życiu czy wymagającego dodatkowej hospitalizacji ciężkiego działania niepożądanego terapii (SAE – severe adverse event).

5.7.6. Skuteczność terapii

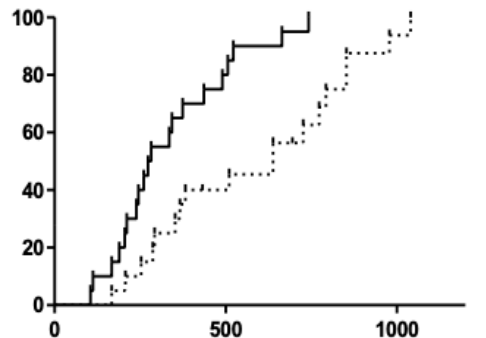
Średnia SF w momencie zakończenia leczenia deferyazyroksem wynosiła $556 \pm 638 \mu\text{g/l}$, natomiast w momencie zakończenia obserwacji (ostatnia wizyta kontrolna) średnia SF wynosiła $700 \pm 638 \mu\text{g/l}$. U 40 z 41 chorych odnotowano zadowalający spadek stężenia ferrytyny. Jedna pacjentka terapię przerwała z powodu ciężkiej postaci GvHD, co było niezależne od leczenia deferyazyroksem. Wartości SF grupy DFX w momencie zakończenia obserwacji porównałam do pacjentów grupy CTRL. W tej grupie średnia SF wyniosła $1464 \pm 585 \mu\text{g/l}$, co było istotnie różne ($p < 0,0001$).



Rycina 37.

Wykres krzywych regresji porównujących dynamikę [dni] spadku SF pacjentów grupy DFX i CTRL

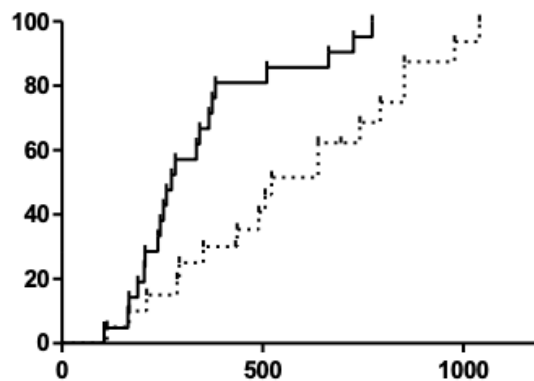
Nieparametrycznym testem Mantel-Cox wykazałam, że pacjenci grupy DFX istotnie statystycznie szybciej osiągnęli spadek SF $< 1000 \mu\text{g/l}$, co było definiowane jako sukces terapeutyczny u chorych leczonych deferyazyroksem, natomiast w grupie CTRL zadowalający samoistny spadek SF ($p < 0,0001$).



Rycina 38.

Wykres krzywych regresji porównujący dynamikę [dni] spadku SF pacjentów grupy DFX ze stwierdzonym wyjściowo SF < 3741 µg/l vs. > 3741 µg/l w momencie rozpoznania IOL

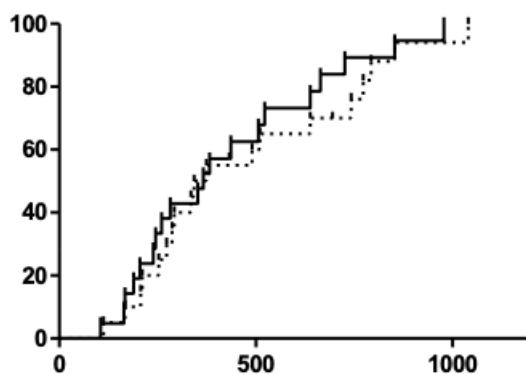
Nieparametrycznym testem Mantel-Cox wykazałam, że pacjenci grupy DFX, u których stwierdziłam SF < 3741 µg/l w momencie rozpoznania IOL osiągnęli sukces terapeutyczny definiowany jako SF < 1000 µg/l znamienne statystycznie szybciej ($p = 0,0007$).



Rycina 39.

Wykres krzywych regresji porównujący dynamikę [dni] spadku SF w pacjentów grupy DFX, którzy otrzymali < 37 j. KKCz vs. > 37 j. KKCz w toku leczenia

Przeanalizowałam dodatkowo wpływ liczby transfuzji na skuteczność leczenia w grupie DFX w oparciu o test Mantel – Cox. Stwierdziłam, że pacjenci grupy DFX, którzy otrzymali mniej niż 37 j. KKCz osiągnęli SF < 1000 µg/l znamienne statystycznie szybciej niż ci chorzy, którzy otrzymali powyżej 37j. KKCz ($p = 0,0013$).



Rycina 40.

Wykres krzywych regresji porównujący dynamikę [dni] spadku ferrytyny pacjentów grupy DFX, którzy otrzymali $< 297 \text{ ml/kg m.c. KKCz}$ vs. $> 297 \text{ ml/kg m.c. KKCz}$ w toku leczenia.

W odniesieniu do ilości transfuzji w ml/kg m.c. przy medianie 297 ml, istotnych statystycznie zależności nie wykazałam ($p = 0,4658$).

5. Dyskusja

Przeszczepienie allogenicznych komórek krwiotwórczych jest procedurą terapeutyczną stosowaną w nowotworowych i nienowotworowych chorobach hematologicznych, zaburzeniach immunologicznych i metabolicznych. Mimo doskonałej techniki samej metody, a także terapii wspomagających, w dalszym ciągu wiąże się z wysokim ryzykiem powikłań. W ostatnim dziesięcioleciu dużo uwagi poświęcono odległym następstwom leczenia onkologicznego, a jednym z omawianych zagadnień jest przeładowanie organizmu żelazem w wyniku przetoczeń koncentratów krwinek czerwonych [90]. Wiedza dotycząca wpływu transfuzji na spichrzanie żelaza pochodzi przede wszystkim z obserwacji pacjentów z rozpoznaniem wrodzonych anemii, anemii aplastycznej czy zespołów mielodysplastycznych. Niewiele jest publikacji dotyczących potransfuzyjnego przeładowania żelazem u pacjentów, zwłaszcza pediatrycznych, leczonych intensywną chemioterapią [91]. W szczególnej sytuacji są chorzy poddani transplantacji komórek krwiotwórczych szpiku kostnego. Mieloablacyjne kondycjonowanie powoduje uwalnianie zgromadzonego żelaza w prekursorach erytrocytów, które nie podlega reutilizacji, lecz jest odkładane patologicznie w narządach. Przejściowe zaburzenie erytropoezy, a także stosunkowo często obecna hemoliza nieuchronnie prowadzą do licznych transfuzji KKCz [71][79]. Dodatkowa i nadmierna podaż żelaza jest przyczyną wyczerpania możliwości wiązania z transferyną, co powoduje narastanie frakcji NTBI. Powstała w ten sposób labilna pula żelaza katalizuje wytwarzanie reaktywnych form tlenu (ROS), która ostatecznie prowadzi do uszkodzenia DNA, a tym samym do destrukcji tkankowej [92].

Przetoczenie 1 j. KKCz dostarcza organizmowi 200-250 mg żelaza, czyli ponad 100-krotnie więcej niż dobową, zbilansowaną dietą [41][42]. Jego kumulacja w wyniku powtarzalnych transfuzji ma charakter indywidualny, aczkolwiek uważa się, że pierwsze cechy IOL pojawiają się po przetoczeniu 10-20 j. KKCz lub 100 ml/kg m.c. [29][79]. Niewątpliwie na ilość realizowanych transfuzji wpływa intensywność leczenia onkologicznego. Częstość występowania IOL u biorców HSCT różni się w piśmiennictwie i jest szacowana między 30-60% [7][79]. Altes i wsp. w autopsyjnym badaniu u 40% biorców allo-HSCT stwierdzili cechy spichrzania żelaza w preparatach wątroby. Średnie stężenie LIC wynosiło 7,7 mg/g sm. [93].

W retrospektywnej analizie Ruccione i wsp. stwierdzili silną, dodatnią korelację, między intensywnością leczenia, a liczbą transfuzji KKCz. Ich kohortę stanowiło ponad 200

dzieci leczonych stacjonarną chemioterapią z powodu ostrych białaczek i guzów litych. Mediana objętości przetoczonego KKCz w grupie badanej wyniosła 66 ml/kg m.c.; ilość zrealizowanych transfuzji korelowała z długością i ciężkością realizowanego leczenia choroby podstawowej [91]. Podobną ocenę przedstawił Nottage i wsp. w analizie pacjentów pediatrycznych leczonych z powodu rozrostów hematologicznych. W badaniu wzięło udział 881 dzieci, z czego 24% było poddanych HSCT. Wszyscy obserwowani chorzy zakończyli leczenie onkologiczne powyżej 5 lat wstecz. Liczba przetoczonych j. KKCz była proporcjonalna do intensywności leczenia choroby podstawowej. Najwięcej transfuzji otrzymały dzieci poddane procedurze przeszczepowej w stosunku do tych bez HSCT (średnia: 61 ml/kg m.c. vs. 140 ml/kg m.c.; $p < 0,001$) [94]. Porównywalne wnioski pojawiły się w wielośrodkowej pracy autorstwa Bernada i wsp. W 10-letniej obserwacji u 240 pacjentów leczonych w dzieciństwie z powodu ostrych białaczek, następnie poddanych HSCT u 28,5% stwierdzono IOL. Jego wystąpienie było związane z intensywnym leczeniem cytostatykami i tym samym większą liczbą transfuzji KKCz [95].

Chorzy, których poddałam analizie, otrzymali w toku leczenia średnio 46 j. KKCz: średnia w grupie DFX wyniosła 48 j., natomiast w grupie CTRL 44 j. Jedyne jeden pacjent otrzymał < 20 j., a maksymalnie przetoczono 137 j. Pięcioro dzieci z grupy kontrolnej wykluczyłam z badania, gdyż nie uzyskałam sumarycznej liczby przetoczonych j. KKCz w toku leczenia. Przeliczając na kg/m.c. maksimum wyniosło 2272 ml; średnio przetoczono odpowiednio w grupie DFX 440 ml/kg m.c. i w grupie CTRL 324 ml/kg m.c. Biorąc pod uwagę ładunek żelaza, średnio chorzy otrzymali odpowiednio dla grup 293 i 216 mg/kg m.c., co wielokrotnie przekraczało możliwości kompensacyjne ustroju. W przeprowadzonym przeze mnie badaniu zaobserwowałam istotnie większą liczbę przetoczeń KKCz u pacjentów, u których zrealizowano więcej niż jedną procedurę przeszczepową, co dotyczyło 10 chorych. W tej grupie średnio przetoczono 79 j. KKCz oraz 733 ml/kg m.c., istotnie więcej w porównaniu do pozostałej grupy chorych.

Według dostępnego piśmiennictwa nie ma wiarygodnego markera oceniającego jednoznacznie stan przeładowania żelazem. Najbardziej powszechną i powtarzalną metodą jest oznaczenie stężenia ferrytyny w surowicy krwi (SF). Ferrytyna jest czułym, ale niespecyficznym markerem dla IOL, ponieważ na jej wzrost wpływają różne patologie, najczęściej związane ze stanem zapalnym [52]. Na podstawie dostępnych rekomendacji i opublikowanych danych sugeruje się sekwencyjne oznaczanie stężenia ferrytyny. Podstawą do rozpoczęcia leczenia chelatującego żelazo jest $SF > 1000 \mu\text{g/l}$ [54]. Wobec powyższego, niezbędne jest regularne monitorowanie oraz obserwacja dynamiki jej zmian w ramach

prowadzonego leczenia. Uzyskanie natomiast stabilnego i zadowalającego SF < 1000 µg/l jest wskazaniem do odstawienia chelatorów żelaza [96]. W polskich wytycznych programu „Leczenia doustnego stanów nadmiaru żelaza w organizmie” zasadniczym kryterium włączenia leczenia chelatującego deferyzyrokssem było SF > 1000 µg/l [76].

Jednym z pierwszych badań poświęconych analizie gospodarki żelazem wśród pacjentów dorosłych poddanych HSCT, była praca McKay i wsp. Rok po zrealizowanym przeszczepieniu szpiku badacze stwierdzili hiperferrytynemię u 66 z 76 chorych, z czego u ponad 50% badanych, stężenie ferrytyny przekraczało 1000 µg/l [97]. Podobnej oceny dokonali Butt i wsp., u których SF w obserwowanej grupie chorych po HSCT wyniosło 1323 µg/l, a oznaczenia dokonano średnio 3,6 roku po ostatniej transfuzji KKCz. Badacze również stwierdzili dodatnią korelację intensywności leczenia i stężenia ferrytyny. Najwyższy jej poziom odnotowali u biorców allo-HSCT w porównaniu do auto-HSCT. Zauważyli również tendencję spadkową stężenia ferrytyny w jednostce czasu. Co ciekawe, badacze nie zaobserwowali trendu spadkowego SF u tych chorych, u których stwierdzono mutację C282Y dla obu lub jednego z pary alleli. Pomimo że grupę cechowała mała liczebność, autorzy wyraźnie przedstawili istotność zagadnienia [98]. Większość publikacji, w których badacze analizowali parametry gospodarki żelazem u chorych ze stwierdzoną mutacją genu *HFE*, dotyczyła pacjentów z rozpoznaniem MDS lub talasemii. U nosicieli zmutowanego genu odnotowano istotnie wyższy poziom ferrytyny w stosunku do chorych bez stwierdzonego zaburzenia [83]. Wydaje się być zasadne przeprowadzenie badań genetycznych u pacjentów wymagających licznych transfuzji KKCz. W tym aspekcie zastanawiające jest, czy mutacja *HFE* jest niezależnym czynnikiem potęgującym przeładowanie żelazem w tej grupie chorych.

Pierwszym badaniem dotyczącym gospodarki żelazem, wśród pacjentów pediatrycznych leczonych z powodu choroby nowotworowej stacjonarną chemio i radioterapią, a kolejno poddanych HSCT, była analiza Kornreich i wsp. Do badania włączono 13 pacjentów, z czego u 7 kontrolowano stężenie ferrytyny, a u 5 chorych stwierdzono znaczny jego wzrost. Ponadto autorzy wykazali dodatnią zależność między liczbą transfuzji, a SF oraz zawartością żelaza w wątrobie (LIC) szacowaną na podstawie MRI [99]. Badaną grupę pacjentów charakteryzowała mała liczebność, a tylko u części z nich oznaczano stężenie ferrytyny, co było słabą stroną analizy.

Obszernym prospektywnym badaniem obejmującym 133 pacjentów wieku dziecięcego leczonych z powodu białaczek (ALL, AML, CML), następnie poddanych allo-HSCT, była analiza Chotsampancharoen i wsp. Po roku od HSCT badacze stwierdzili podwyższone stężenie

ferrytyny, którego mediana wynosiła 1158 $\mu\text{g/l}$. Wykazali też silną, dodatnią korelację między SF, a stężeniem żelaza oznaczanym w tym samym czasie ($r = 0,65$, $p < 0,001$). Autorzy pracy podkreślili, iż ferrytyna nie jest markerem specyficznym dla IOL, zwłaszcza u pacjentów we wczesnym okresie przeszczepowym z uwagi na często towarzyszący proces zapalny i ostrą postać GvHD. Stwierdzili dodatnią korelację wysokiego stężenia ferrytyny z ostrą (aGVHD) oraz ujemną z postacią przewlekłą – cGVHD [100].

U pacjentów, których przeanalizowałam z racji intensywnego leczenia i tym samym dużej liczby transfuzji, regularnie monitorowano parametry gospodarki żelazem. U wszystkich chorych obu grup zbadano stężenie ferrytyny przed HSCT, którego średnia wyniosła 2174 $\mu\text{g/l}$ (DFX 2087 $\mu\text{g/l}$; CTRL 2262 $\mu\text{g/l}$ odpowiednio). Uzyskane wyniki świadczyły o przeładowaniu żelazem i zasadniczo już na tym etapie były wskazaniem do rozpoczęcia terapii chelatującej. U nikogo nie włączono leczenia chelatującego żelazo bezpośrednio przed rozpoczęciem procedury przeszczepowej. Najwyższe stężenie ferrytyny odnotowano w pierwszym oznaczeniu po HSCT. W grupie DFX średnia wyniosła 5394 ± 2563 $\mu\text{g/l}$, natomiast w grupie CTRL 3998 ± 1250 $\mu\text{g/l}$. Różnica parametrów obu grup wynikała najprawdopodobniej z faktu, iż pierwszego oznaczenia dokonano w grupie DFX do 30 doby po HSCT – średnio w 28 dniu. W grupie CTRL średni czas oznaczenia wynosił 47 dni po HSCT. Zgodnie z danymi opublikowanymi w piśmiennictwie, między innymi badaniem Chotsampancharoen, Portera czy Jarsich i wsp., na poziom ferrytyny we wczesnym okresie przeszczepowym wpływają liczne czynniki, jak infekcje bakteryjne, ostra postać GvHD czy stan zapalny śluzówek [54][100][101]. Duża amplituda zmian w krótkim czasie jest raczej charakterystyczna dla aktywnego stanu zapalnego, a niespecyficzna dla oceny przeładowania żelazem.

W przeprowadzonym przeze mnie badaniu, z uwagi na wysokie parametry gospodarki żelazem w sekwencyjnych pomiarach, chorych zakwalifikowano do leczenia chelatującego. Średnia stężenia ferrytyny w grupie DFX wynosiła 4492 ± 2608 $\mu\text{g/l}$. Pacjenci tej grupy otrzymali leczenie chelatujące żelazo doustnym preparatem deferazyroks. Średni czas od HSCT do stwierdzenia IOL i tym samym rozpoczęcia terapii wynosił 199 dni, natomiast od diagnozy choroby podstawowej i szacunkowo pierwszych transfuzji KKCz wyniósł 723 dni. Pacjenci grupy kontrolnej, mimo cech IOL nie otrzymali leczenia chelatującego. W tej grupie przyczyną był brak zgody opiekuna i/lub pacjenta na leczenie (37%), przeciwwskazania medyczne (39%), a także brak dostępu do leku (12%). Dwoje chorych było po 18 r.ż. i w ramach refundacji przez NFZ włączenie terapii było niemożliwe. Średnie stężenie ferrytyny w tej grupie chorych przy

stwierdzeniu IOL wyniosło $2999 \pm 1207 \mu\text{g/l}$, średni czas od HSCT wynosił 233 dni, a od diagnozy choroby podstawowej wynosił 918 dni. W ocenie średniej SF w obu grupach zaobserwowałam różnicę istotną statystycznie, co mogło wynikać z różnego po HSCT czasu oceny tego parametru. Stratyfikacja do dwóch grup umożliwiła obserwację dynamiki zmian stężenia ferrytyny wśród chorych, którzy otrzymali leczenie chelatujące żelazo i tych, którzy leczenia nie otrzymali, mimo stwierdzonych cech IOL. Dzięki temu porównałam obie grupy pod względem parametrów gospodarki żelazem i jednocześnie dokonałam oceny skuteczności terapii chelatującej w grupie DFX.

Spośród laboratoryjnych parametrów gospodarki żelazem rutynowo oznaczane jest jego stężenie, całkowita zdolność wiązania żelaza (TIBC) czy saturacja bądź stężenie transferyny (TS). Parametry te pozwalają zrozumieć zaburzenia homeostazy żelaza, ale nie są elementem wpływającym na decyzje terapeutyczne.

W analizowanej przeze mnie grupie pacjentów przy rozpoznaniu IOL stwierdziłam podwyższone stężenie żelaza. Średnia wynosiła odpowiednio w grupie DFX $196 \pm 43 \mu\text{g/dl}$, natomiast w grupie CTRL $182 \pm 51 \mu\text{g/dl}$, co znacznie przekraczało wartości referencyjne. Zaobserwowałam dodatnią korelację między stężeniem ferrytyny, a stężeniem żelaza w jednoczesnym oznaczeniu. W obu grupach odnotowałam obniżenie TIBC oraz wzrost stężenia transferyny w stosunku do wartości referencyjnych, co jest charakterystyczne dla stanu przeładowania żelazem. Biorąc pod uwagę dwa ostatnie parametry, nie wykazałam jednak dodatniej korelacji ze stężeniem ferrytyny. Podobne wyniki zostały przedstawione przez Altes i wsp. Wysoki poziom saturacji transferyny nie korelował, ani z liczbą zrealizowanych transfuzji, ani SF. Autorzy wysunęli hipotezę, że wzrost saturacji transferyny może być związany z toksycznie spichrzanym żelazem w wątrobie i w związku z tym niższą produkcją samej transferyny. Zgromadzone z kolei w wątrobie żelazo jest słabo dostępne dla erytropoezy [93].

W grupie analizowanych przeze mnie chorych zauważyłam stopniowe obniżanie się stężenia ferrytyny w czasie obserwacji. Wśród pacjentów leczonych deferyzyroksem zadowolający spadek i osiągnięcie wartości docelowych były istotnie krótsze, niż odnotowane u chorych, którzy leczenia nie otrzymali. Dynamikę spadku prezentują ryciny nr 19, 20, 21 W analizowanych grupach odnotowałam, że istotne statystycznie obniżenie się SF w grupie kontrolnej stwierdzane było po 9. miesiącu obserwacji, podczas gdy w grupie badanej już w 6. miesiącu. Ogólny trend spadku SF obserwowałam od początku włączenia leczenia chelatującego w grupie DFX, czego nie wykazałam w grupie CTRL. Cappellini i wsp.

zauważyli dopiero w kolejnych miesiącach leczenia deferazyroksem tendencję spadkową SF, w pierwszych z kolei utrzymywało się stabilnie wysokie jej stężenie [96].

Warto podkreślić, że w przeprowadzonym przeze mnie badaniu u ozdowieńców grupy DFX, poza jedną chorą, której ponownie włączono deferazyroks z powodu hemolizy i dodatkowych transfuzji KKCz, w trakcie ostatniej wizyty kontrolnej stężenie ferrytyny utrzymywało się na poziomie $< 1000 \mu\text{g/l}$; średnia wynosiła $700 \pm 638 \mu\text{g/l}$. U chorych z grupy CTRL natomiast średnia stężenia ferrytyny przy zakończeniu obserwacji wyniosła $1464 \pm 585 \mu\text{g/l}$. U 71% chorych w grupie CTRL podczas ostatniej kontroli obserwowałam stężenie ferrytyny $> 1000 \mu\text{g/l}$, z tego u 18% $> 2000 \mu\text{g/l}$, a u 10% $> 3000 \mu\text{g/l}$.

W analizowanej przeze mnie grupie pacjentów DFX i CTRL zbadalam, które czynniki mogły wpłynąć na poziom ferrytyny w okresie poprzyszczepowym od 30 doby po HSCT. Czynniki infekcyjne, stan zapalny śluzówek, a także ostra postać GvHD niezależnie od IOL mogą być istotne dla wzrostu stężenia osoczowej ferrytyny [54]. U chorych uczestniczących w przeprowadzonym przeze mnie badaniu w trakcie obserwacji odnotowałam najczęściej krótkotrwały i przejściowy wzrost stężenia ferrytyny związany z działaniem czynnika: infekcja, GvHD, dodatkowe transfuzje. Co ciekawe, po ustaniu jego działania, zauważalny był ewidentny samoistny spadek do wartości wyjściowej. Taką zależność zaobserwowałam u 74% dzieci. Najczęściej przejściowy wzrost SF stwierdziłam we wczesnym okresie po HSCT, tj. do 100 doby. Najczęstszą przyczyną była infekcja, czemu towarzyszył wzrost parametrów zapalnych (CRP, prokalcytonina oraz fibrynogen) – 62%; GvHD – 41%; natomiast 24 (39%) chorych wymagało dodatkowych transfuzji, czego powodem była najczęściej hemoliza. Dodatnią korelację ze wzrostem stężenia ferrytyny zaobserwowałam u tych chorych, którzy wymagali dodatkowych przetoczeń KKCz. Podobnie wśród pacjentów, u których zaobserwowałam wzrost stężenia ferrytyny, odsetek tych z rozpoznaniem GvHD, był statystycznie istotnie większy w porównaniu do grupy pacjentów, u których nie zaobserwowałam wzrostu SF. Stwierdziłam brak istotności statystycznej u badanych z rozpoznanymi infekcjami, które miały najczęściej charakter łagodny. Ze względu na mało liczebną grupę nie mogłam poddać analizie badanych parametrów w zależności od stopnia ich ciężkości. Ocena stężenia ferrytyny, zwłaszcza w kontekście IOL, jest zatem mało specyficzna i należy wziąć pod uwagę wpływ dodatkowych czynników regulujących jej wysokość. Niezbędne jest wprowadzenie dodatkowych narzędzi diagnostycznych, jak badanie obrazowe MRI czy klasyczna biopsja narządowa, co dopełni rozpoznanie IOL.

Porter i wsp., w podsumowaniu *post hoc* obszernego wielośrodkowego badania EPIC, przedstawili ograniczoną wartość diagnostyczną stężenia ferrytyny. Podkreślili, że ocena

wartości bezwzględnych SF, z uwagi na wpływ na jej poziom innych czynników niż transfuzjozależność, stanowi o niedoskonałości tej metody. Badacze dokonali analizy dynamiki zmian stężenia ferrytyny i jej korelacji z LIC. Badaniu poddano 317 dorosłych i dzieci, u których oznaczono SF przed rozpoczęciem leczenia deferytosem i po roku jego stosowania. Mediana wyjściowego stężenia ferrytyny wyniosła 3675 $\mu\text{g/l}$. U 73% pacjentów odnotowano zadowalający jej spadek, co korelowało z obniżeniem LIC oszacowanym na podstawie MRI. U 23% zaobserwowano utrzymanie się wartości stężenia ferrytyny na stałym poziomie lub nawet jego wzrost; u połowy z tej grupy chorych wystąpił natomiast istotny spadek LIC. Dodatkowo badacze zauważyli, że wśród chorych, u których odnotowano poziom $> 4000 \mu\text{g/l}$, istnieje słaba korelacja z wysokim LIC, co przypisali roli dodatkowych czynników wpływających na jej wartość. Silna, dodatnia korelacja obserwowana była u pacjentów z SF $< 4000 \mu\text{g/l}$ i LIC $> 15 \text{ mg/g sm}$. Badanie pokazało jak ograniczone jest diagnozowanie IOL w oparciu jedynie o stężenie ferrytyny. Autorzy podkreślili istotność interpretacji dynamiki zmian stężenia ferrytyny, co korelowało z LIC, a nie wartości bezwzględnych SF [54].

Podobnej analizy dokonał Jarisch i wsp. u 36 pacjentów < 20 r.ż. z rozpoznaniem transfuzjozależnej talasemii po allo-HSCT. U chorych równolegle oceniano stężenie ferrytyny w surowicy i LIC z zastosowaniem MRI. Parametry oznaczano w rocznych interwałach czasowych w 10-letniej obserwacji. Udowodniono tendencję spadkową SF oraz LIC, aczkolwiek w różnym zakresie. Autorzy stwierdzili silną, dodatnią korelację między SF, a LIC wyłącznie w pierwszym roku obserwacji. W kolejnych latach różnica nie była istotna statystycznie ($p > 0,05$). U części chorych, u których SF $< 1000 \mu\text{g/l}$ stwierdzono wysoki poziom LIC świadczący o IOL. W kolejnych latach obserwacji narastała rozbieżność między SF, a LIC i od drugiego roku stwierdzono brak istotności statystycznej. W pierwszym roku różnica SF i LIC była na poziomie 10%, podczas, gdy w 3. roku obserwacji wynosiła 58%. Autorzy zaobserwowali, że u 34% badanych utrzymywał się wysoki poziom ferrytyny $> 1000 \mu\text{g/l}$, podczas gdy LIC w wątrobie wynosił $< 5 \text{ mg/g sm}$. Ci chorzy otrzymali leczenie chelatujące wg autorów bezzasadnie, gdyż odnotowano u części z nich objawy niepożądane stosowanej terapii, a badanie obrazowe MRI potwierdziło niskie obciążenie organizmu żelazem [101]. Podobnie jak w analizie Portera i wsp. podkreślono, że diagnostyka IOL ograniczona wyłącznie do oznaczenia stężenia ferrytyny, ma niską wartość prognostyczną [54].

Na podstawie powszechnie dostępnych danych z piśmiennictwa i obserwacji własnych można zadać pytanie, czy jedynie wysokie stężenie ferrytyny jest wystarczającym markerem IOL? Dotychczasowe wytyczne ASBMT (American Society for Blood and Marrow

Transplantation), NCCN (National Comprehensive Cancer Network), wieloletnie stanowisko ekspertów ds. leczenia MDS rekomendują monitorowanie odległych następstw leczenia po HSCT w aspekcie IOL seryjnym oznaczaniem stężenia ferrytyny [70][102][103]. Jak wspomniano leczenie chelatujące wg zaleceń polskich ekspertów należy rozpocząć, gdy SF przekracza poziom 1000 $\mu\text{g/l}$ i monitorować regularnie jej stężenie w trakcie terapii [29][76]. Najnowsze doniesienia podkreślają zasadność wykonywania badania MRI w celu ewaluacji IOL, sugerując jego wyższość nad oznaczaniem SF [90][104]. Z tego powodu u 12 chorych, co stanowiło 29% grupy DFX, zrealizowałam badania obrazowe: MRI oraz USG elastografię jamy brzusznej. Rutynowe wykonanie MRI u każdego pacjenta nie było możliwe do przeprowadzenia z powodu ograniczonej dostępności badania. Jediną realizowaną wówczas metodą radiologiczną była sekwencja Gandona w MRI. U chorych wykonano badanie w momencie rozpoznania IOL. Tego samego dnia oznaczono parametry laboratoryjne gospodarki żelazem oraz dodatkowo wykonano USG jamy brzusznej z użyciem sondy elastograficznej w celu oceny sprężystości wątroby. Ideą badania było porównanie dwóch metod obrazowych i próba odpowiedzi na pytanie, czy USG elastografia jamy brzusznej mogłoby być alternatywą dla badania MRI. Dokonano oceny, czy uzyskane parametry laboratoryjne korelują z badaniami obrazowymi. Średnia stężenia ferrytyny w tej grupie wyniosła 4515 $\mu\text{g/l}$. Średnia LIC w MRI wyniosła 232 $\mu\text{mola/g}$. Średnia ocena uszkodzenia wątroby z zastosowaniem sondy elastograficznej w USG (SWE) wyniosła 8,45 kPa, co świadczyło o stopniu umiarkowanym - F1 w skali Metavir. Zarówno parametry laboratoryjne, jak i wyniki badań obrazowych obu metod świadczyły o IOL. Wykazałam dodatnią korelację SF z LIC oznaczonym za pomocą kalkulatora na podstawie sekwencji Gandona ($r = 0,9566$, $p < 0,0001$). Wykazałam również dodatnią korelację SF z USG elastografią ($r = 0,6108$, $p = 0,0349$). Ponadto wykazałam dodatnią korelację MRI z USG elastografią ($r = 0,5910$, $p = 0,0430$). Dodatkowo w tej grupie dokonałam pomiarów wielkości wątroby i śledziona wśród analizowanych parametrów. Stwierdziłam nieznaczne powiększenie narządów w stosunku do norm przyjętych dla wieku. Jednakże tego parametru nie poddałam analizie, gdyż obarczone było ryzykiem błędu.

Według dostępnej mi wiedzy badania obrazowe w aspekcie IOL dotychczas nie były realizowane u dzieci. Poważnym ograniczeniem tej metody jest konieczność znieczulenia ogólnego młodszych pacjentów. Pomimo małej liczebności badanej przeze mnie grupy, uzyskałam istotne statystycznie korelacje między analizowanymi parametrami. Uzyskane wyniki sugerują potransfuzyjne narządowe gromadzenie żelaza. Niewątpliwą zaletą jest nieinwazyjny i powtarzalny charakter badania, a prezentowane rezultaty są pilotażowe i sugerują wdrożenie metod obrazowych do rutynowej diagnostyki IOL. Badanie wymaga ścisłej

współpracy z zespołem radiologów i opracowania protokołu metody zgodnie z przyjętymi normami. Badaniem wręcz idealnym dla oceny IOL byłaby elastografia w MRI. Niestety metoda, mimo że doskonała, niedostępna do realizacji z uwagi na wysoki koszt oprogramowania i aparatury.

W wytycznych PDWP przy EBMT (Pediatric Diseases Working Party przy European Bone Marrow Transplantation) opublikowanych w 2020 r. po raz pierwszy wyraźnie podkreślono rolę MRI, poza monitorowaniem stężenia ferrytyny w aspekcie przeładowania ustroju żelazem. Rekomendowane jest wykonanie badania obrazowego zarówno przed, jak i po HSCT [90]. Podobne stanowisko zostało zaprezentowane przez ASH (American Society of Hematology) odnośnie terapii wspomagającej w SCD (sickle cell disease) [104].

Mimo, że biopsja wątroby uważana jest za złoty standard diagnostyczny, służący do oceny IOL, wykonywana jest obecnie stosunkowo rzadko. Brittenham i wsp. udowodnili liniowy związek między całkowitym przeciążeniem żelazem organizmu, a tym zawartym w wątrobie [46][105]. W warunkach prawidłowych górna granica normy wynosi 1,6 mg/g sm., natomiast wartość progowa wynosi 7 mg/g sm., powyżej której należy rozważyć leczenie chelatujące [41]. Brittenham i wsp. w innej pracy dokonali oceny LIC wśród pacjentów pediatrycznych z rozpoznaniem β -talasemii, gdzie LIC 7-15 mg/g sm. był istotnym czynnikiem rozwoju marskości wątroby i powikłań endokrynologicznych. LIC > 15 mg/g sm. wiązał się z wystąpieniem powikłań sercowych i w związku z tym wczesnych zgonów w tej grupie [62]. Altes i wsp., w autopsyjnym materiale u pacjentów dorosłych po allo-HSCT, oszacowali średnią zawartość żelaza w preparatach wątroby, która wynosiła 7,7 mg/g sm. [93]. W obszernym materiale retrospektywnym Oshrine i wsp. oszacowali całkowite ryzyko powikłań po zabiegu sięgające 20-25% wśród pacjentów pediatrycznych po HSCT [59][60]. W analizowanej przeze mnie grupie nie wykonano biopsji wątroby u żadnego pacjenta z uwagi na ryzyko niepożądanych następstw zabiegu.

Przeładowanie organizmu żelazem ma niekorzystny wpływ na wynik HSCT i powoduje uszkodzenie narządów, w których jest nadmiarowo gromadzone. Może przyczyniać się do opóźnienia odnowy hematologicznej, zwiększa ryzyko wystąpienia infekcji, VOD i GvHD [79][80]. Prowadzi zatem do zaburzenia funkcji wątroby, jej włóknienia i ostatecznie marskości. Skutkuje niewydolnością serca i powikłaniami endokrynologicznymi związanymi z zaburzeniem funkcji przysadki, trzustki i gonad [89]. Storey i wsp. w oparciu o wcześniejsze doniesienia choćby Altes czy Armanda i wsp. przedstawili negatywny wpływ nadmiernie spichrzanego żelaza na wynik procedury przeszczepowej, niezależnej od wznowy choroby podstawowej (NRM - non relapse mortality). Autorzy opracowali Transplant Iron Score (TIS),

na podstawie którego ocenili negatywny wpływ gromadzącego się w narządach żelaza na ogólne przeżycie, co było istotne statystycznie. Poza tym wśród chorych, u których stwierdzono wysoki TIS, wystąpiły ciężkie infekcje, które wpłynęły na wysoką śmiertelność badanej grupy [93][106][107]. W innej analizie przedstawionej przez Kataoka i wsp. wysokie stężenie ferrytyny przed HSCT niekorzystnie wpływało na OS i spowodowało istotny wzrost NRM. U chorych, u których utrzymywało się SF > 599 µg/l po 5 latach od HSCT, całkowite przeżycie było niższe oraz NRM była wyższa w stosunku do chorych, u których stwierdzono SF < 599 µg/l [108]. Kondo i wsp. u 93 chorych < 18 r.ż. ocenili wpływ prognostyczny stężenia ferrytyny przed allo-HSCT na wynik transplantacji. W grupie chorych, u których po 5-letniej obserwacji SF > 1000 µg/l całkowite przeżycie było znacznie niższe (42% vs. 76%; p = 0,001), a NRM znacznie wyższy (41% vs. 18%, p = 0,018) w stosunku do chorych, u których SF < 1000 µg/l [109].

Wpływ zaburzeń gospodarki żelazem na możliwość wystąpienia infekcji i nasilenia uszkodzenia narządów zgodnie z dostępną wiedzą wyrażony jest najbardziej we wczesnym okresie po HSCT. W tym czasie chorzy prezentują podobne problemy kliniczne: zapalenie śluzówek, pancytopenię, niedobór odporności, toksyczne uszkodzenie narządów. IOL w związku z dostępnością żelaza dla patogenów siderofilnych powoduje większą chorobowość i śmiertelność związaną z infekcją [23]. Kanda i wsp. odnotowali czterokrotnie częstsze wystąpienie powikłań infekcyjnych u chorych z wysokim stężeniem ferrytyny (> 700 µg/l). Zgony z powodu infekcji wystąpiły u tych pacjentów, u których stężenie ferrytyny było skrajnie wysokie [88]. Pullarkat i wsp. dowiedli, że ryzyko ciężkich infekcji krwiopochodnych jest dwukrotnie większe u chorych, u których SF przed HSCT wynosiło > 1000 µg/l [110]. Altes i wsp. opisali natomiast dodatnią korelację między wysokim SF przed HSCT, a występowaniem inwazyjnej aspergilozy (IA) [93]. W innej analizie Kontoyiannis i wsp. u biorców HSCT potwierdzili wysoki wskaźnik TIS i udowodnili, że jest on niezależnym czynnikiem ryzyka IA [111]. Wykazano, że wzrost *Rhizopus* spp. jest znacznie wyższy u chorych przeładowanych żelazem, od tych bez stwierdzonego IOL i jest dodatnio skorelowany ze stężeniem ferrytyny. Leczenie deferoksaminą może także zwiększać podatność na zygomycozę, gdyż *Rhizopus* używa jej jako sideroforu do pozyskiwania żelaza [112][113]. Z kolei terapia deferazyroksem powoduje brak dostępności pierwiastka dla wzrostu Mucorales. W pierwszym badaniu randomizowanym Spellberg i wsp. zaproponowali terapię potwierdzonej mukormykozy z zastosowaniem kombinowanego leczenia liposomalną postacią amfoterycyny B (LAmB) z deferazyroksem w porównaniu z grupą leczoną LAmB i placebo. Autorzy odnotowali istotnie

wyższą śmiertelność w 90. dobie wśród tych leczonych deferazyrokssem. Badanie nie potwierdziło deferazyroksu jako chelatora wspomagającego leczenie inwazyjnej grzybicy, mimo obiecujących doniesień [114]. Niestety w dalszym ciągu niewiele jest danych dotyczących wpływu IOL na rozwój i przebieg infekcji wirusowych u chorych po allo-HSCT zwłaszcza w populacji pediatrycznej.

Leczenie kondycjonujące skutkuje toksycznym działaniem także na tkanki i narządy zdrowe. Powoduje nagły wzrost NTBI i jednocześnie generowanie wolnych rodników ROS. Jednym z najczęstszych powikłań jest uszkodzenie hepatocytów w chorobie wenoobkluzyjnej wątroby (VOD-SOS). Podobny patomechanizm mikroangiopatyczny występuje w HUS, TAM czy TTP. Brak jest jednak danych w piśmiennictwie oceniających wpływ przeładowania żelazem na nieinfekcyjne powikłania po HSCT [78].

IOL może być przyczyną zwiększonego ryzyka choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi, zarówno postaci ostrej, jak i przewlekłej. Niektóre doniesienia jednak kwestionują taką zależność, a nawet sugerują fakt osłabiania układu immunologicznego, co może wpływać na brak zależności między IOL a GvHD [79]. W analizie Jarisch i wsp. w badanej grupie częstość ostrej i przewlekłej postaci GvHD wynosiła odpowiednio 66% i 33%. Nie wykazano istotnej statystycznie korelacji SF i LIC u pacjentów z rozpoznanym GvHD i u tych bez cech GvHD w rok po HSCT ($p = 0,756$ i $p = 0,597$ odpowiednio) [101]. W przeprowadzonej przeze mnie analizie natomiast taka zależność wystąpiła. W całej analizowanej przeze mnie grupie stwierdziłam GvHD u 41% pacjentów.

Toksyczne działanie niezwiązanej puli żelaza ujawnia się w zaburzeniu funkcjonowania narządów wydzielania wewnętrznego, czyli przysadki, tarczycy, gonad czy trzustki. Efektem tej patologii jest rozwój cukrzycy, wadliwe dojrzewanie i wzrastanie. Wśród obserwowanych chorych odnowałam u 33% pacjentów wzrost $< 3\text{cc}$. Niemniej jednak nie można na tym etapie obserwacji stwierdzić, że przyczyną niskiego wzrostu było patologicznie zgromadzone w narządach dokrewnych żelazo. U każdego z chorych stosowano przewlekłe chemioterapię oraz terapię kortykosteroidami, wynikającą z leczenia choroby podstawowej czy GvHD. Część z tych pacjentów była poddana radioterapii OUN, bądź całego ciała (TBI), czego konsekwencją jest wielohormonalna niewydolność przysadki. U 41% odnotowano zaburzenia funkcji tarczycy wymagające leczenia substytucyjnego L-tyroksyną. Z powodu zbyt małej liczebności grupy i istnienia wielu czynników skutkujących niedoczynnością tarczycy, tego aspektu nie poddałam analizie w kontekście IOL.

Najbardziej niebezpiecznym i zagrażającym życiu powikłaniem IOL jest uszkodzenie kardiomiocytów w wyniku gromadzącego się w nich żelaza. Badacze Delea i wsp. w

retrospektywnej analizie oszacowali, że nadmiarowe żelazo, w wyniku licznych transfuzji KKCz jest czynnikiem ryzyka rozwoju kardiomiopatii i zaburzeń rytmu, co prowadzi do niewydolności serca. Najczęściej niewydolność serca obserwuje się u chorych dorosłych z rozpoznaniem transfuzjozależnych zaburzeń hematologicznych. U żadnego z badanych przeze mnie chorych nie wykonano MRI serca z powodu braku dostępu do metody. Na podstawie standardowego USG serca jedynie u 5% chorych stwierdzono zaburzenia hemodynamiczne wymagające kardioprotekcyjnego leczenia. Z uwagi na złożoność powikłań po HSCT, niską liczebność grupy oraz stosunkowo krótki okres obserwacji analizowanych przeze mnie chorych w aspekcie kardiotoxyczności, nie poddałam analizie tego parametru [32].

Inne wnioski zaprezentował Trottier i wsp. u chorych dorosłych po zrealizowanym allo-HSCT. W prospektywnej kohorcie grupa badaczy stwierdziła brak istotności statystycznej w odniesieniu do OS oraz NRM u pacjentów, u których stwierdzono IOL. U chorych z wysokim stężeniem ferrytyny oraz LIC nie stwierdzono zależności między ostrą i przewlekłą postacią GvHD, wystąpieniem choroby wenookluzyjnej wątroby oraz toksycznym uszkodzeniem narządów [115].

Przeładowanie organizmu żelazem w wyniku transfuzji KKCz jest problemem często występującym wśród chorych poddanych HSCT. Potencjalne konsekwencje IOL są poważne i dlatego też wymagają interwencji terapeutycznej. Należy podkreślić, że jest istotna różnica, między chorymi zależnymi od transfuzji z powodu wrodzonych anemii, a tymi, u których realizowane jest intensywne leczenie związane z procedurą przeszczepową. Regularne transfuzje u dzieci w relatywnie długich odstępach czasowych, powodują wykorzystanie żelaza do intensywnego wzrostu i rozwoju. Natomiast nagromadzenie żelaza w stosunkowo krótkim czasie oraz działanie innych czynników wpływających toksycznie na tkanki, prowadzi do kumulacji powikłań narządowych i ich dysfunkcji [79].

Terapia chelatująca żelazo została po raz pierwszy wprowadzona w latach 60-tych ubiegłego stulecia. Deferoksamina, do tej pory uważana za złoty standard, z potwierdzoną skutecznością zwiększyła całkowite przeżycie wśród chorych zależnych od transfuzji [96]. Jej stosowanie wymagało regularnych i długotrwałych podskórnych wlewów 5-7 dni w tygodniu, co wiązało się z koniecznością hospitalizacji. Z powodu specyfiki preparatu nie zawsze prowadzone leczenie było zgodne z obowiązującym schematem. Terapia deferazyroksem, która została wprowadzona szeroko do praktyki klinicznej u dzieci dzięki programowi NFZ „Doustnego leczenia stanów nadmiaru żelaza w organizmie” w 2014 r., była ściśle i regularnie monitorowana zgodnie z wymogami programu lekowego. Dotychczas, poza prezentacją przypadków klinicznych, w Polsce nie opublikowano wyników leczenia deferazyroksem u

dzieci. Chorzy poddani niniejszej analizie stanowią zatem unikalną grupę pacjentów pediatrycznych po HSCT leczonych preparatem deferazyroks. Transplantacja komórek krwiotwórczych w aspekcie IOL była też najczęstszym wskazaniem do kwalifikacji i prowadzenia leczenia deferazyroks w polskiej populacji dziecięcej.

Zasadniczym i nurtującym w aspekcie stwierdzonych zaburzeń gospodarki żelazem jest pytanie, kiedy rozpocząć leczenie chelatujące? Mimo powszechności problemu nie ma jednoznacznych wytycznych rekomendujących optymalny czas rozpoczęcia terapii chelatującej u pacjentów intensywnie leczonych z powodu choroby podstawowej, a zwłaszcza poddanych HSCT.

U chorych grupy badanej (DFX), decyzję o rozpoczęciu terapii podejmowano indywidualnie, biorąc pod uwagę stan kliniczny pacjentów, stężenie ferrytyny oraz ilość przetoczonych KKCz. W niniejszym badaniu średni czas od HSCT do rozpoczęcia leczenia deferazyroks wynosił 199 dni.

Niektóre z dostępnych badań wyraźnie sugerują, że terapia chelatująca powinna być wdrożona przed allo-HSCT, co wpływa na redukcję TRM i zwiększa EFS oraz OS [116]. W analizowanej przez mnie grupie DFX u 11 (27%) chorych stosowano różne formy leczenia chelatującego przed HSCT: deferoksamina – 9, deferazyroks – 1, upusty krwi – 1. W tej grupie pacjentów nie zaobserwowałam istotnie krótszego czasu do uzyskania SF < 1000 µg/l w porównaniu do chorych, u których rozpoczęto terapię chelatującą po HSCT. Grupę cechowała mała liczebność, ale charakteryzowała się wysokim stężeniem osoczowej ferrytyny przed HSCT, której średnia wynosiła 5352 µg/l, a pacjentom przetoczono średnio 109 j. KKCz. Te parametry były istotnie wyższe w porównaniu do dzieci, które nie otrzymały chelatorów żelaza przed HSCT. Być może należy wyselekcjonować chorych obarczonych wysokim ryzykiem IOL wysoki stopień IOL i o ile to możliwe takim pacjentom włączać jak najszybciej leczenie chelatujące. Podobne stanowisko przedstawił Altes i wsp. z dodatkową sugestią intensyfikacji leczenia chelatującego u tych pacjentów, u których stwierdza się uszkodzenie narządów, w których dodatkowo gromadzone żelazo może nasilać ich niewydolność [93].

Trudno jest jednoznacznie określić, jaki byłby dogodny czas po zrealizowanej procedurze przeszczepowej rozpoczęcia leczenia chelatującego u pacjentów ze stwierdzonym IOL. Mimo, że deferazyroks uważany jest za stosunkowo bezpieczny, działania niepożądane są często obserwowane. ASBMT sugeruje rozpoczęcie monitorowania gospodarki żelazem rok po HSCT, jako element obserwacji powikłań odległych. Niemniej jednak większość autorów zgodnie podkreśla brak jednoznacznych wytycznych i wskazówek dotyczących rozpoczęcia terapii chelatującej żelazo [101].

Badania nad bezpieczeństwem i skutecznością terapii deferazyroksem zostały przeprowadzone głównie u pacjentów dorosłych, przede wszystkim z wrodzonymi transfuzjozależnymi anemiami. W obszernym badaniu EPIC objawy niepożądane zależne były od rozpoznania choroby podstawowej. Najczęściej występowały u chorych z rozpoznaniem MDS, a najczęściej obserwowanym działaniem niepożądanym była biegunka (32%). Pozostałe dolegliwości, a także nieprawidłowości parametrów laboratoryjnych miały charakter łagodny i nie przekraczały 25% [117].

Niewiele jest jednak doniesień dotyczących bezpieczeństwa stosowania leku u biorców przeszczepów, zwłaszcza dzieci. Jedną z pierwszych analiz było badanie Jaekel i wsp., którzy udokumentowali wystąpienie działań niepożądanych u 71% pacjentów, w tym 61% miało charakter łagodny, natomiast 36% umiarkowany. Najczęstszym odnotowanym powikłaniem była zależna od dawki przejściowa niewydolność nerek. Redukcja dawki, bądź krótkotrwała przerwa wymagana była u 85% chorych, u których stwierdzono poprawę ocenianych parametrów [118]. Yesilipek i wsp. odnotowali u 92% dzieci łagodne objawy niepożądane, spośród których najczęstszy był wzrost ALAT i ASPAT oraz wzrost stężenia kreatyniny. Nieprawidłowości miały charakter przejściowy i krótkotrwały. Autorzy nie stwierdzili hepatotoksyczności czy nefrotoksyczności, bądź trwałego uszkodzenia narządów [119]. Maximova i wsp. obserwowali także działania niepożądane o łagodnym lub umiarkowanym nasileniu. Najczęstszą nieprawidłowością był przejściowy wzrost kreatyniny u 38% badanych, natomiast zaburzenia żołądkowo-jelitowe u 15% chorych [120].

W grupie analizowanych przeze mnie dzieci leczonych deferazyroksem działania niepożądane stosowanego leku stwierdziłam u 29 (70%) pacjentów. Łącznie odnotowałam 69 epizodów. Biorąc pod uwagę parametry laboratoryjne najczęściej obserwowałam wzrost transaminaz wątrobowych u 16 (39%) dzieci. U 3 chorych poziom transaminaz wątrobowych 5-krotnie przekroczył wartości referencyjne, co klasyfikowało do 3 stopnia działań niepożądanych wg kryteriów CTCEA. Hipertransaminazemii nie towarzyszył wzrost poziomu bilirubiny ani GGTP. Wzrost stężenia kreatyniny zaobserwowałam u 12 (29%) chorych. U 7 (17%) z nich wystąpił przejściowy spadek GFR < 90 ml/min, ale u żadnego pacjenta nie obniżył się < 60 ml/min. W tej grupie u 5 (12%) dzieci wystąpiły nieprawidłowości w badaniu ogólnym moczu, z czego najczęściej obserwowałam proteinurię. Z powodu mała liczebnych grup nie poddałam analizie statystycznej przedstawionych powikłań w zależności od przyjmowanej dawki leku. Niemniej jednak redukcja dawki i/lub przejściowe odstawienie preparatu skutkowało normalizacją parametrów laboratoryjnych. Można zatem mniemać, że zarówno

przejściowa hipertransaminazemia, jak i wzrost stężenia kreatyniny, były zależne od przyjmowanego preparatu, a także od jego dawki.

Najczęściej zgłaszanymi przez pacjentów dolegliwościami były bóle brzucha, co wystąpiło u 15 (36%) chorych. Ich nasilenie miało charakter łagodny lub umiarkowany. Biegunkę obserwowałam u 7 (17%) dzieci; u dwojga z nich wystąpiły nudności, a u jednego wymioty. U 1 chorego zaobserwowałam wysypkę o charakterze alergiczno-toksycznym, a u 2 chorych obrzęki stawów kończyn górnych i dolnych. Dolegliwości ustąpiły po odstawieniu leku. U 1 chorego zaobserwowałam wzrost RR, ze słabą reakcją na leki przeciwnadciśnieniowe, ale z normalizacją ciśnienia po odstawieniu leku.

Wszystkie zgłoszone działania niepożądane miały charakter przejściowy i po zredukowaniu dawki leku, bądź jego odstawieniu, obserwowałam normalizację parametrów laboratoryjnych i poprawę stanu klinicznego. U żadnego z chorych nie stwierdziłam zagrażającego życiu czy wymagającego hospitalizacji z powodu działania niepożądanego terapii, co świadczy o bezpieczeństwie stosowanego leku i jego akceptowalnej tolerancji.

Kolejnym zagadnieniem, co do którego nie ma jednoznacznego konsensusu ekspertów, jest dawkowanie preparatu deferazyroks. Dotychczas, tj. do 2019 r. producent leku zalecał dawkowanie między 10-30 mg/kg m.c./dobę. Jako dawkę inicjującą terapię rekomendowano 20 mg/kg m.c./dobę, a maksymalną określono na 40 mg/kg m.c./dobę.

Pacjentom biorącym udział w badaniu włączyłam deferazyroks w dawce ok. 20 mg/kg m.c./dobę - średnia wyniosła 19,1 mg/kg/dobę. Przy rozpoczęciu leczenia pod uwagę wzięłam postać farmaceutyczną dostępnych tabletek – 125, 250 i 500 mg. Dawkowanie modyfikowałam w zależności od odpowiedzi na leczenie i wystąpienia działań niepożądanych terapii. W analizowanej przeze mnie grupie odnotowałam konieczność redukcji dawki u 21 (51%) pacjentów z powodu działań niepożądanych. Najczęstszą przyczyną był wzrost stężenia kreatyniny z jednoczesnym spadkiem GFR w dwóch niezależnych pomiarach oraz wzrost transaminaz wątrobowych.

Przerwę w terapii zaordynowałam u 22 (54%) pacjentów, z czego u 13 (31%) chorych odstawiłam preparat po wcześniejszej nieskutecznej redukcji dawki. Najczęstszą przyczyną był wzrost ALAT i/lub ASPAT, co obserwowałam u 9 (22%) pacjentów. U jednej chorej zakończyłam terapię przed uzyskaniem zadowalającego poziomu ferrytyny z powodu zaostrzenia GvHD, co nie było związane z prowadzonym leczeniem deferazyroksem.

W analizowanej grupie nie mogłam stwierdzić, czy wyższa dawka leku, tj. > 20 mg/kg m.c./dobę, skróciła czas terapii. Z powodu małej liczebności tej grupy – tylko u 2 pacjentów średnia dawka przewyższała 20 mg/kg m.c./dobę. Z uwagi na częste modyfikacje dawkowania

leku w zależności od stanu klinicznego i parametrów laboratoryjnych do celów analizy statystycznej wzięłam pod uwagę średnią dobową dawkę. W badaniu EPIC autorzy zauważyli, że najkorzystniejszy efekt terapeutyczny rozumiany przez spadek SF uzyskano u chorych leczonych dawką > 30 mg/kg m.c. Autorzy zaproponowali początkowe dostosowanie dawki do stanu przeciążenia żelazem oraz jej weryfikację co 3 miesiące, bazując na aktualnym stężeniu ferrytyny i innych parametrach laboratoryjnych [117]. W badaniu Vichinsky i wsp. stwierdzili, że najskuteczniejsza jest dawka terapeutyczna > 20 mg/kg m.c./dobę [121]. Natomiast Majhail i wsp. stwierdzili, że dawka dobową 10 mg/kg m.c. lub niższa raczej stabilizuje poziom żelaza, niż powoduje jego redukcję [79]. W badanej przeze mnie grupie chorych niskie dawki, tj. < 10 mg/kg m.c./dobę były skuteczne i dobrze tolerowane przez dzieci i w tej grupie odnotowałam zadowalające obniżenie się stężenie ferrytyny. Maximova i wsp. sugerowali w swojej analizie rozpoczęcie leczenia chelatującego od niskiej dawki i w zależności od tolerancji preparatu jej eskalowanie [60].

W Polsce od września 2019 r. została wprowadzona nowa formuła preparatu deferyzyroks. Zamiast tabletki do sporządzenia zawiesiny doustnej dostępne są powlekanie tabletki zawierające odpowiednio 90, 180, 360 mg deferyzyroksu. W związku z lepszą biodostępnością preparatu, dawka dobową została obniżona o 30%. Aktualnie producent zaleca dawkę początkową 14 mg/kg m.c., natomiast zakres dawkowania to 7-21 mg/kg m.c./dobę, co jest analogiczne do wcześniejszego schematu dawkowania.

Taher i wsp. przeprowadzili randomizowane badanie porównawcze ECLIPSE, w którym pacjenci z rozpoznaniem transfuzjoozależnej talasemii oraz MDS otrzymywali odpowiednio: 20 mg/kg m.c. w postaci tabletki do sporządzenia zawiesiny oraz 14 mg/kg m.c. tabletki powlekanej. Dawkowanie w obu grupach modyfikowano zgodnie z obowiązującą charakterystyką produktu leczniczego. Badanie pokazało porównywalną skuteczność obu postaci preparatu. Działania niepożądane obu grup nie różniły się istotnie [122].

W Polsce nowa formuła deferyzyroksu stosowana jest od 2020 r. Żaden z pacjentów otrzymujących postać powlekaną leku nie został włączony do niniejszej analizy.

W badanej przeze mnie grupie chorych leczonych deferyzyroksem średni czas terapii wyniósł 441 ± 253 dni (min 105; max 1040), wzięwszy pod uwagę przerwę w terapii średnio pacjenci otrzymywali lek 407 ± 235 dni (min 105; max 1020). Leczenie z sukcesem zakończyło 40 (98%) chorych. Jedynie u jednej chorej z powodu ciężkiej, przewlekłej postaci GvHD przerwano terapię, co było niezależne od stosowanego leku. W analizowanej grupie odnotowano 5 zgonów po zakończeniu leczenia chelatującego żelazo. Dwa zgony spowodowane były wznową i progresją choroby podstawowej, natomiast 3 pacjentów zmarło

z powodu niewydolności wielonarządowej w przebiegu sepsy. Średni czas zgonu od zakończenia terapii deferytryksem wyniósł 374 dni.

Przeprowadzona przeze mnie analiza chorych leczonych preparatem deferytryks potwierdza jego skuteczność. Wśród pacjentów, u których stosowałam deferytryks obserwowałam zadowalającą odpowiedź na leczenie. Średnie stężenie ferrytyny w momencie zakończenia leczenia w grupie DFX wyniosło 632 $\mu\text{g/l}$. Jedynie u jednej chorej jej bezwzględna wartość przekraczała 1000 $\mu\text{g/l}$, powodem czego była ciężka i długotrwała hemoliza i w związku z tym intensywnie prowadzone leczenie KKCz. W grupie DFX w porównaniu z CTRL odnotowałam zadowalający, istotnie większy spadek stężenia ferrytyny. Podczas ostatniej wizyty kontrolnej średnie stężenie ferrytyny wynosiło odpowiednio dla grup DFX vs. CTRL: $700 \pm 638 \mu\text{g/l}$ vs. $1464 \pm 585 \mu\text{g/l}$. Pacjentom grupy CTRL, u których odnotowałam stężenie ferrytyny na poziomie $> 1000 \mu\text{g/l}$, zaproponowałam ponowną diagnostykę IOL z jednoczesnym poszerzeniem badania o obrazowania MRI. W przypadku wysokiego LIC, SF i braku przeciwwskazań do włączenia leczenia deferytryksem, terapia zostanie zrealizowana.

Według dostępnego piśmiennictwa i obserwacji własnych leczenie deferytryksem jest skuteczne zarówno wśród chorych, którzy otrzymali uprzednio leczenie chelatujące lub upusty krwi i u tych, u których deferytryks był stosowany po raz pierwszy [124]. Niewątpliwą zaletą prowadzonego leczenia, jest możliwość jego realizacji w warunkach ambulatoryjnych.

Preparat deferytryks jest bezpiecznym i skutecznym lekiem chelatującym żelazo. Liczne wielośrodkowe badania, jak również niniejsza analiza, potwierdzają jego dobrą tolerancję. Działania niepożądane obserwowane wśród pacjentów mają charakter najczęściej łagodny i przejściowy, a stałe i regularne monitorowanie zapewnia bezpieczeństwo prowadzonej terapii. Niezwykle wartościowe jest poszerzenie diagnostyki IOL o badania obrazowe, co zostało udowodnione w dostępnym piśmiennictwie, mimo braku jednoznacznych rekomendacji ich stosowania. Także niniejsza analiza potwierdza zasadność wprowadzenia obrazowania narządów, w których dochodzi do gromadzenia nadmiarowego żelaza.

Istnieje potrzeba powstania algorytmu postępowania u chorych, u których stwierdza się IOL w wyniku licznych transfuzji KKCz. Ta grupa pacjentów powinna podlegać szczególnej kontroli zaburzeń gospodarki żelazem, zwłaszcza po zakończeniu intensywnego leczenia choroby podstawowej

6. WNIOSKI

- I.** Monitorowanie przeładowania ustroju żelazem powinno być realizowane regularnie u dzieci po HSCT. Wśród parametrów laboratoryjnych gospodarki żelazem użyteczne jest wyłącznie stężenie ferrytyny
- II.** Uzyskane wyniki sugerują potrzebę poszerzenia diagnostyki IOL o badania obrazowe, w tym MRI
- III.** Terapia deferazyroksem u chorych, u których stwierdzono przeładowanie organizmu żelazem w wyniku transfuzji KKCz, jest skuteczna i dobrze tolerowana
- IV.** Działania niepożądane prowadzonej terapii deferazyroksem mają charakter łagodny i przejściowy

7. STRESZCZENIE

Przeszczepienie allogenicznych komórek krwiotwórczych jest procedurą terapeutyczną stosowaną w nowotworowych i nienowotworowych chorobach hematologicznych, zaburzeniach immunologicznych i metabolicznych. Mimo doskonałej techniki samej metody, a także terapii wspomagających, w dalszym ciągu wiąże się z wysokim ryzykiem powikłań. W ostatnim dziesięcioleciu dużo uwagi poświęcono odległym następstwom leczenia onkologicznego, a jednym z omawianych zagadnień jest przeładowanie organizmu żelazem w wyniku transfuzji koncentratów krwinek czerwonych (KKCz). Przetoczenie 1 j. KKCz dostarcza organizmowi 200-250 mg żelaza. Jego kumulacja w wyniku powtarzalnych transfuzji ma charakter indywidualny, aczkolwiek uważa się, że pierwsze cechy przeładowania ustroju żelazem (IOL) pojawiają się po przetoczeniu 10-20 j. KKCz lub 100 ml/kg m.c. Organizm człowieka nie posiada mechanizmów aktywnie usuwających nadmiar żelaza, stąd jego kumulacja w ustroju prowadzi do ciężkiego, często nieodwracalnego uszkodzenia przeładowanych nim tkanek i narządów.

Celem badania była analiza metod diagnostycznych IOL u dzieci po transplantacji allogenicznych komórek krwiotwórczych, ocena skuteczności terapii deferyzyrokssem i jego działań niepożądanych.

Badaniem objęłam grupę 82 chorych, u których zrealizowano procedurę przeszczepienia allogenicznymi komórkami krwiotwórczymi (HSCT). U pacjentów w wyniku licznych transfuzji KKCz stwierdzono przeładowanie ustroju żelazem. 41 pacjentów grupy badanej (DFX) otrzymało terapię chelatującą doustnym preparatem deferyzyroks, natomiast 41 chorych grupy kontrolnej (CTRL), mimo stwierdzonych cech IOL, leczenia chelatującego nie otrzymało. U wszystkich pacjentów poddałam analizie parametry laboratoryjne oceny gospodarki żelazem, tj. osoczowe stężenia ferrytyny, żelaza, transferyny oraz całkowitą zdolność wiązania żelaza (TIBC) na poszczególnych etapach obserwacji pacjentów po HSCT, w tym w czasie leczenia chelatującego deferyzyrokssem. U części chorych wykonałam badania obrazowe: USG elastografię oraz rezonans magnetyczny (MRI), które dopełniły diagnostykę IOL.

Przy użyciu testów statystycznych porównałam parametry obu grup. Z wykorzystaniem testu Mann-Whitney'a oceniłam zależności pomiędzy stężeniami ferrytyny w analizowanych grupach (DFX i CTRL) na początku obserwacji (PO), tj. w chwili rozpoznania IOL oraz na końcu obserwacji (KO). Stwierdziłam obecność istotnych statystycznie różnic w stężeniach

ferrytyny pomiędzy grupami DFX PO vs. CTRL PO, DFX KO vs. CTRL KO, DFX PO vs. DFX KO oraz CTRL PO vs. CTRL KO ($p < 0,0001$ dla wszystkich). Testem Pearsona wykazałam silną dodatnią korelację między LIC MRI a stężeniem ferrytyny ($r = 0,9566$, $p < 0,0001$). Przy użyciu testu nieparametrycznego Dunna oceniłam różnice w stężeniach ferrytyny w grupie DFX w licznych punktach czasowych. Wykazałam występowanie istotnych statystycznie różnic pomiędzy punktami M0 vs. M6 ($p < 0,0001$), oraz kolejno M0 vs. M9, M0 vs. M12, M0 vs. M24, M0 vs. M36, M0 vs. M48 oraz M0 vs. OW ($p < 0,0001$ dla wszystkich). Zależność wskazywała na ewidentny, dynamiczny spadek stężenia ferrytyny od 6 miesiąca obserwacji. Po przekroczeniu punktu M9 nie zaobserwowałam istotnych statystycznie spadków stężeń ferrytyny w odniesieniu do pozostałych analizowanych punktów czasowych. W przypadku grupy kontrolnej zależność wskazywała na widoczny spadek stężenia ferrytyny dopiero od 9 miesiąca obserwacji, a o przekroczeniu punktu M9 nie obserwowałam istotnych statystycznie spadków stężeń ferrytyny w odniesieniu do pozostałych analizowanych punktów czasowych. Nieparametrycznym testem Mantel-Cox wykazałam, że pacjenci grupy DFX istotnie statystycznie szybciej od pacjentów grupy CTRL osiągnęli docelową wartość stężenia ferrytyny, czyli $< 1000 \mu\text{g/l}$ ($p < 0,0001$).

W oparciu o uzyskane rezultaty wnioskuję, że monitorowanie przeładowania ustroju żelazem powinno być realizowane regularnie u dzieci po HSCT. Wśród parametrów laboratoryjnych gospodarki żelazem użyteczne jest wyłącznie stężenie ferrytyny. Uzyskane wyniki sugerują potrzebę poszerzenia diagnostyki IOL o badania obrazowe, w tym MRI. Ponadto, terapia deferyzyrokssem u chorych, u których stwierdzono przeładowanie organizmu żelazem w wyniku transfuzji KKCz jest skuteczna i dobrze tolerowana. Działania niepożądane prowadzonej terapii deferyzyrokssem mają charakter łagodny i przejściowy.

8. SUMMARY

Allogeneic hematopoietic cell transplantation is a therapeutic procedure used in cancer and non-cancerous hematological diseases, immunological and metabolic disorders. Despite the excellent technique of the method itself, as well as supportive therapies, it is still associated with a high risk of complications. In the last decade, a lot of attention has been devoted to the distant consequences of oncological treatment, and one of the issues discussed is iron overload as a result of transfusion of red blood cells (RBC). A transfusion of 1 IU RBC supplies 200-250 mg of iron. Its accumulation as a result of repeated transfusions is individual, although it is believed that the first symptoms of iron overload (IOL) appear after transfusion of 10-20 IU RBC or 100 ml / kg bw. The human body does not have mechanisms that actively remove excess iron, hence its accumulation in the body leads to severe, often irreversible damage to iron overloaded tissues and organs.

The aim of the study was to analyze IOL diagnostic methods in children after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, and to evaluate effectiveness of deferasirox therapy and its side effects.

The study included a group of 82 patients who underwent allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). Patients due to numerous RBC transfusions developed iron overload. 41 patients in the study group (DFX) received chelation therapy with oral deferasirox, while 41 patients in the control group (CTRL), despite known IOL features, did not receive chelating treatment. I analyzed laboratory parameters of iron management, *i.e.* plasma concentrations of ferritin, iron, transferrin and total iron binding capacity (TIBC) at all the observation stages of patients after HSCT, including chelating treatment in all patients. In some patients I performed imaging examinations: ultrasound elastography and magnetic resonance imaging (MRI), which fulfilled the diagnosis of IOL.

By usage of statistical tests, I compared the parameters of both groups. Using the Mann-Whitney test, I assessed the relationship between ferritin concentrations in the analyzed groups (DFX and CTRL) at the beginning of the observation (PO), *i.e.* at the time of diagnosis of IOL and at the end of the observation (KO). I found statistically significant differences in ferritin concentrations between groups DFX PO *vs.* CTRL PO, DFX KO *vs.* CTRL KO, DFX PO *vs.* DFX KO and CTRL PO *vs.* CTRL KO ($p < 0.0001$ for all). By Pearson test I showed a strong positive correlation between LIC MRI and ferritin concentration ($r = 0,9566$, $p < 0,0001$). Using a non-parametric Dunn test, I evaluated differences in ferritin concentrations in the DFX group at multiple time points. I showed statistically significant differences between points M0 *vs.* M6

($p < 0.0001$), and M0 vs. M9, M0 vs. M12, M0 vs. M24, M0 vs. M36, M0 vs. M48 and M0 vs. OW ($p < 0.0001$ for all). The relationship indicated a clear, dynamic decrease in ferritin concentration from the 6th month of observation. After passing the M9 point, I did not observe statistically significant decreases in ferritin concentrations in relation to the other analyzed time points. In the case of the control group, the relationship indicated a visible decrease in ferritin concentration only from the 9th month of observation, and after passing the M9 point I did not observe statistically significant decreases in ferritin concentration in relation to the other analyzed time points. The non-parametric Mantel-Cox test showed that patients of the DFX group statistically significantly faster than patients of the CTRL group achieved a target value defined as a decrease in ferritin concentration $< 1000 \mu\text{g/l}$ ($p < 0.0001$).

Based on the obtained results, I conclude that monitoring of iron overload should be carried out regularly in children after HSCT. Among the laboratory parameters for iron management, only ferritin concentration is effective. The obtained results suggest the need to extend IOL diagnostics to imaging tests, including MRI. In addition, deferasirox therapy in patients with iron overload due to RBC transfusion is effective and well tolerated. Adverse reactions to the therapy with deferasirox are mild and transient.

9. SPIS RYCIN I TABEL

9.1. Spis rycin

- Rycina 1.
Dystrybucja żelaza w organizmie człowieka w warunkach prawidłowych;
wg [2]
- Rycina 2.
Mechanizm wchłaniania żelaza przez ścianę jelita; [2]
- Rycina 3.
Obrót żelaza w ustroju; wg [11]
- Rycina 4.
Schemat krążenia żelaza w połączeniu z TF oraz frakcją NTBI; wg [28]
- Rycina 5.
Złogi żelaza w hepatocytach w przebiegu hemochromatozy. Barwienie błękitem
Perlsa.
- Rycina 6.
Liczba i rodzaj transplantacji zrealizowanych w polskich pediatrycznych oddziałach
przeszczepowych w latach 1989-2016; wg [83]
- Rycina 7., Rycina 8.
Zestawienia wskazań do alloHSCT w populacji dziecięcej w polskich ośrodkach
przeszczepowych w latach 1989-2016
- Rycina 9.
Rozpoznanie choroby podstawowej będące wskazaniem do procedury HSCT
w grupie DFX
- Rycina 10.
Rozpoznanie choroby podstawowej będące wskazaniem w grupie CTRL
- Rycina 11.
Przyczyny niewłączenia terapii deferyazyroksem u pacjentów z grupy CTRL
- Rycina 12.
Kalkulator służący do obliczania LIC
- Rycina 13.
Średnie SF u chorych grupy DFX przed i po HSCT
- Rycina 14.
Średnie SF u chorych grupy CTRL
- Rycina 15.
Średnie SF u chorych grupy DFX i CTRL w momencie rozpoznania IOL
- Rycina 16.
Średnie stężenie żelaza u chorych grupy DFX i CTRL w momencie rozpoznania
IOL
- Rycina 17.
Stężenie TIBC u chorych grupy DFX i CTRL w momencie rozpoznania IOL
- Rycina 18.
Stężenie transferyny u chorych grupy DFX i CTRL w momencie rozpoznania IOL
- Rycina 19.
Średnie SF w określonych punktach czasowych w grupie DFX

- Rycina 20.
Średnie SF w określonych punktach czasowych w grupie CTRL
- Rycina 21.
Dynamika zmian stężenia ferrytyny w obserwowanym czasie w obu grupach DFX i CTRL
- Rycina 22.
Stężenie ferrytyny na początku i na końcu obserwacji u chorych obu grup
- Rycina 23.
Stężenie żelaza na początku i na końcu obserwacji u chorych obu grup
- Rycina 24.
Stężenie TIBC na początku i na końcu obserwacji
- Rycina 25.
Stężenie transferyny na początku i na końcu obserwacji u chorych obu grup
- Rycina 26.
Średnia liczba transfuzji KKCz (jednostek) w grupie DFX oraz CTRL
- Rycina 27.
Średnia ilość transfuzji KKCz (ml/kg m.c.) w grupie DFX oraz CTRL
- Rycina 28.
Wykres korelacji liczby transfuzji KKCz (jednostek) ze stężeniem ferrytyny w momencie stwierdzenia IOL u pacjentów grupy DFX oraz CTRL
- Rycina 29.
Wykres korelacji ilości transfuzji KKCz (ml/kg m.c.) ze stężeniem ferrytyny w momencie stwierdzenia IOL u pacjentów grupy DFX oraz CTRL
- Rycina 30.
Wykres korelacji liczby transfuzji KKCz (jednostek) na czas, w którym stwierdzono docelowe osiągnięcie stężenia ferrytyny w grupie DFX
- Rycina 31.
Wykres korelacji ilości transfuzji KKCz (ml/kg m.c.) na czas, w którym stwierdzono docelowe osiągnięcie stężenia ferrytyny w grupie DFX
- Rycina 32.
Wykres korelacji LIC w MRI z SF
- Rycina 33.
Wykres korelacji USG elastografii z SF
- Rycina 34.
Wykres korelacji USG elastografii z LIC w MRI
- Rycina 35.
Przyczyny redukcji dawki deferydroksu w toku leczenia
- Rycina 36.
Przyczyny odstawienia deferydroksu w toku leczenia
- Rycina 37.
Wykres krzywych regresji porównujących dynamikę normalizacji zadowalającego spadku SF pacjentów grupy DFX i CTRL
- Rycina 38.
Wykres krzywych regresji porównujących dynamikę spadku SF pacjentów grupy DFX w zależności od wyjściowego stężenia poziomu ferrytyny
- Rycina 39.
Wykres krzywych regresji porównujących dynamikę spadku stężenia ferrytyny u pacjentów grupy DFX w zależności od liczby transfuzji KKCz (jednostki)

Rycina 40.

Wykres krzywych regresji porównujących dynamikę spadku stężenia ferrytyny u pacjentów grupy DFX w zależności od liczby transfuzji KKCz (ml/kg m.c.)

9.2. Spis tabel

Tabela 1.

Rozmieszczenie tkankowe żelaza w organizmie człowieka; wg [3][4] w modyfikacji własnej

Tabela 2.

Najczęstsze postaci hemochromatozy wrodzonej; wg [33] w modyfikacji własnej

Tabela 3.

Rzadko występujące podtypy hemochromatozy wrodzonej; wg [33] w modyfikacji własnej

Tabela 4.

Porównanie parametrów diagnostycznych

Tabela 5.

Porównanie preparatów chelatujących żelazo; wg [52] w modyfikacji własnej

Tabela 6.

Powikłania po HSCT i wpływ IOL na ich wystąpienie; wg [79] w modyfikacji własnej

Tabela 7.

Porównanie parametrów klinicznych grupy DFX i CTRL

Tabela 8.

Stężenie ferrytyny u chorych grupy DFX przed i po HSCT

Tabela 9.

Stężenie ferrytyny u chorych grupy CTRL przed i po HSCT

Tabela 10.

Stężenie ferrytyny na początku i na końcu obserwacji u chorych obu grup

Tabela 11.

Stężenie żelaza na początku i na końcu obserwacji u chorych obu grup

Tabela 12.

Zestawienie średniej liczby (jednostek) zrealizowanych przetoczeń KKCz w obu grupach pacjentów

Tabela 13.

Zestawienie średniej liczby (ml/kg m.c.) zrealizowanych przetoczeń KKCz w obu grupach pacjentów

Tabela 14.

Zestawienie czynników wpływających na przejściowy wzrost SF w czasie obserwacji pacjentów obu grup

Tabela 15.

Zestawienie wyników badań laboratoryjnych oraz obrazowych pacjentów grupy DFX w momencie rozpoznania IOL

Tabela 16.

Zestawienie działań niepożądanych w czasie odstawienia deferazyroks

10. PIŚMIENICTWO

- [1] T. Ganz, "Systemic Iron Homeostasis," *Physiol. Rev.*, vol. 93, no. 4, pp. 1721–1741, Oct. 2013.
- [2] G. Papanilolaou, K. Pantopoulos, "Systemic iron homeostasis and erythropoiesis" *Iubmb Life*, vol. 69, iss 6, pp 3999-4013
- [3] S. Dev and J. L. Babitt, "Overview of iron metabolism in health and disease," *Hemodial. Int.*, vol. 21, pp. S6–S20, Apr. 2017.
- [4] K. Korzeniowska, I. Wietlicka, and A. Jabłeczka, "Zaburzenia gospodarki żelaza Część 1. Hemochromatoza Disorders of iron balance Part 1. Hemochromatosis," *Farmacja współczesna* vol. 5, pp. 83-87, 2012.
- [5] L. M. Romiszewski, "Ocena gospodarki żelazem w trakcie i po leczeniu ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci" Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych. Katedra i Klinika Pediatrii , Hematologii i Onkologii WUM," 2016.
- [6] T. Ganz and E. Nemeth, "Iron metabolism: interactions with normal and disordered erythropoiesis.," *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, vol. 2, no. 5, p. a011668, May 2012.
- [7] M. Dutka, "Ocena wpływu zaburzeń homeostazy żelaza na przebieg powikłań infekcyjnych i inieinfekcyjnych u chorych poddanych alotransplantacji komórek macierzystek hematopoezy," Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych. Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii GUM,"2017.
- [8] P. Lipiński, " Metabolizm hemu jako integralny element homeostazy żelaza," *Postępy Hig Med. Dosw*, no 68, pp 557-570, 2014.
- [9] L. L. Filipczyk, "Hepcydyna-hormon wątrobowy kontrolujący homeostazę żelaza Hepcidin-a hepatic hormone that controls iron homeostasis," *Forum Nefrol.*, vol. 3, pp. 233–242, 2010.
- [10] A. Shander, M. D. Cappellini, and L. T. Goodnough, "Iron overload and toxicity: the hidden risk of multiple blood transfusions," *Vox Sang.*, vol. 97, no. 3, pp. 185–197, Oct. 2009.
- [11] N. C. Andrews, "Forging a field: the golden age of iron biology.," *Blood*, vol. 112, no. 2, pp. 219–30, Jul. 2008.
- [12] S. Milic *et al.*, "The Role of Iron and Iron Overload in Chronic Liver Disease.," *Med. Sci. Monit.*, vol. 22, pp. 2144–51, Jun. 2016.
- [13] A. Levina and P. A. Lay, "Transferrin Cycle and Clinical Roles of Citrate and Ascorbate in Improved Iron Metabolism," *ACS Chem. Biol.*, p. acschembio.8b01100, Apr. 2019.

- [14] J. Artym, "Udział laktoferryiny w gospodarce żelazem w organizmie, cz. I. Wpyw laktoferryiny na wchłanianie, transport i magazynowanie żelaza" *Postępy Hig Med Dosw*, 62, pp 599-611.
- [15] J. Kopeć-Szlęzak, "Macrophages and their function in hematopoietic system", *Journal of Transfusion Medicine*, vol. 7, no. 3, pp 84-92, 2014.
- [16] J. Zauwała-Jagiełło, "Receptory dla hemoglobiny", *Postępy Biol. komórki*, vol. 36, no. 3, pp. 395–406, 2009.
- [17] J. M. Berg, L.Stryer, J Tymoczko, G.Gatto, "Biochemia". Wydawnictwo Naukowe PWN, pp 199-223, 2019.
- [18] J. R. Forbes and P. Gros, "Divalent-metal transport by NRAMP proteins at the interface of host-pathogen interactions.," *Trends Microbiol.*, vol. 9, no. 8, pp. 397–403, Aug. 2001.
- [19] D. Haschka, C. Volani, A. Stefani, P. Tymoszczuk, T. Mitterling, E.Holzknrecht, A.Heidbreder, S.Coassin, Z.Sumbalowa, M.Seifert, S. Dicht, I. Theurl, E. Gnaiger, F. Kronenberg, B. Frauscher, B. Hogl, G. Weiss, "Association of mitochondrial iron deficiency and dysfunction with idiopathic restless legs syndrome," *Mov. Disord.*, vol. 34, no. 1, pp. 114–123, Jan. 2019.
- [20] J. M. Powers and G. R. Buchanan, "Disorders of Iron Metabolism New Diagnostic and Treatment Approaches to Iron Deficiency." *Hematol Oncol Clin North Am*, vol 3, no 33, Mar 2019,
- [21] J. E. Cassat and E. P. Skaar, "Iron in infection and immunity," *Cell Host and Microbe*, vol. 13, no. 5. Cell Press, pp. 509–519, 15-May-2013.
- [22] E. Nemeth, MS. Tuttle, J. Powelson, V. Donovan, A. Ward, T.Ganz, J.Kaplan, "Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization.," *Science*, vol. 306, no. 5704, pp. 2090–3, Dec. 2004.
- [23] H. Drakesmith and A. M. Prentice, "Hepcidin and the iron-infection axis.," *Science*, vol. 338, no. 6108, pp. 768–72, Nov. 2012.
- [24] K. Matsui, S. Ezoe, T. Yokota, T. Ishibashi, K. Oritani, and Y. Kanakura, "Iron Overload Effects On Immune System Through The Cytokine Secretion By Macrophage," *Blood*, vol. 122, no. 21, pp. 1047–1047, Nov. 2013.
- [25] Á. Remacha, C.Sanz, E.Contreras, C. Diaz De Heredia, J. Grifols, M. Lozano, G. Nunez, R. Salinas, M. Corral, A. Villegas, "Guidelines on haemovigilance of post-transfusional iron overload," *Blood Transfus*, vol. 11, pp. 128–167, 2013.

- [26] H. J. H. Fenton, "LXXIII.—Oxidation of tartaric acid in presence of iron," *J. Chem. Soc., Trans.*, vol. 65, no. 0, pp. 899–910, Jan. 1894.
- [27] R. R. Starzyński, A. Styś, M. Straciło, "Homeostaza żelaza - mechanizm obronny w stresie oksydacyjnym", *Postępy biochemii*, vol 2, no 56, 2010
- [28] P. Brissot, M. Ropert, C. Le Lan, and O. Loréal, "Non-transferrin bound iron: A key role in iron overload and iron toxicity," *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, vol. 1820, no. 3. pp. 403–410, Mar-2012.
- [29] M. Matysiak, "Deferazyroks (Exjade) w terapii chelatującej u dzieci" *Hematologia.*, vol. 2, no. 1. 2011.
- [30] M. Simon, M. Bourel, B. Genetet, and R. Fauchet, "Idiopathic Hemochromatosis," *N. Engl. J. Med.*, vol. 297, no. 19, pp. 1017–1021, Nov. 1977.
- [31] J. Raszeja-Wyszomirska, "Medycyna po Dyplomie - Hemochromatoza wrodzona."
- [32] A. Pietrangelo, "Hereditary Hemochromatosis: Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment," *Gastroenterology*, vol. 139, no. 2, pp. 393-408.e2, Aug. 2010.
- [33] C. Camaschella, "Understanding iron homeostasis through genetic analysis of hemochromatosis and related disorders," *Blood*, vol. 106, no. 12, pp. 3710–3717, Dec. 2005.
- [34] K. Kowdley, K. Brown, J. Ahn, V. Sundram, "ACG Clinical Guideline: Hereditary Hemochromatosis" *Am J Gastroenterol*, vol 8, no 114, pp 1202 -1218, 2019
- [35] J. Raszeja-Wyszomirska, G. Kurzawski, J. Suchy, I. Zawada, J. Lubinski, and P. Milkiewicz, "Frequency of mutations related to hereditary haemochromatosis in northwestern Poland," *J. Appl. Genet.*, vol. 49, no. 1, pp. 105–107, Mar. 2008.
- [36] H. Kawabata, "The mechanisms of systemic iron homeostasis and etiology, diagnosis, and treatment of hereditary hemochromatosis," *Int. J. Hematol.*, vol. 107, no. 1, pp. 31–43, Jan. 2018.
- [37] Y. Nagayoshi *et al.*, "A Q312X mutation in the hemojuvelin gene is associated with cardiomyopathy due to juvenile haemochromatosis☆," *Eur. J. Heart Fail.*, vol. 10, no. 10, pp. 1001–1006, Oct. 2008.
- [38] C. Camaschella and P. Strati, "Recent advances in iron metabolism and related disorders," *Internal and Emergency Medicine*, vol. 5, no. 5. pp. 393–400, 2010.
- [39] A. Pietrangelo, "Ferroportin disease: Pathogenesis, diagnosis and treatment," *Haematologica*, vol. 102, no. 12. Ferrata Storti Foundation, pp. 1972–1984, 30-Nov-2017.

- [40] Y. M. Deugnier, D. Guyader, L. Crantock, J. Lopez, B. Turlin, J. Youang, H. Jouanolle, JP. Campion, B. Launois, J. Halliday “Primary liver cancer in genetic hemochromatosis: A clinical, pathological, and pathogenetic study of 54 cases,”
Gastroenterology, vol. 104, no. 1, pp. 228–234, Jan. 1993.
- [41] J. B. Porter, “Practical management of iron overload,”
Br. J. Haematol., vol. 115, no. 2, pp. 239–252, Nov. 2001.
- [42] J. Dwilewicz-Trojaczek and A. Waszczuk-Gajda, “Znaczenie terapii chelatującej u pacjentów z przeładowaniem żelaza w wyniku częstych transfuzji krwi,”
Hematologia, vol. 7, no. 1, pp. 1–13, Aug. 2016.
- [43] K. Thakerngpol *et al.*, “Liver injury due to iron overload in thalassemia: histopathologic and ultrastructural studies.,”
Biometals, vol. 9, no. 2, pp. 177–83, Apr. 1996.
- [44] M. A. Yassin, A. T. Soliman, V. De Sanctis, K. S. Yassin, and M. A. Abdulla, “Final Height and Endocrine Complications in Patients with β -Thalassemia Intermedia: Our Experience in Non-Transfused Versus Infrequently Transfused Patients and Correlations with Liver Iron Content.,”
Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis., vol. 11, no. 1, p. e2019026, 2019.
- [45] M. Kowalczyk, J.R., Matysiak,
Onkohematologia dziecięca - co nowego?, pp 5-11, 2009.
- [46] G. M. Brittenham, “Iron-Chelating Therapy for Transfusional Iron Overload,”
N. Engl. J. Med., vol. 364, no. 2, pp. 146–156, Jan. 2011.
- [47] G. J. Kontoghiorghes, A. Spyrou, and A. Kolnagou, “Iron Chelation Therapy in Hereditary Hemochromatosis and Thalassemia Intermedia: Regulatory and Non Regulatory Mechanisms of Increased Iron Absorption,”
Hemoglobin, vol. 34, no. 3, pp. 251–264, Jun. 2010.
- [48] A. Piperno, “Classification and diagnosis of iron overload.,”
Haematologica, vol. 83, no. 5, pp. 447–55, May 1998.
- [49] B. Langlois d’Estaintot *et al.*, “Crystal Structure and Biochemical Properties of the Human Mitochondrial Ferritin and its Mutant Ser144Ala,”
J. Mol. Biol., vol. 340, no. 2, pp. 277–293, Jul. 2004.
- [50] E. Vichinsky, “Consensus document for transfusion-related iron overload.,”
Semin. Hematol., vol. 38, no. 1 Suppl 1, pp. 2–4, Jan. 2001.
- [51] E. D. Morrison *et al.*, “Serum Ferritin Level Predicts Advanced Hepatic Fibrosis among U.S. Patients with Phenotypic Hemochromatosis,”
Ann. Intern. Med., vol. 138, no. 8, p. 627, Apr. 2003.

- [52] A. T. Taher and A. N. Saliba, "Iron overload in thalassemia: different organs at different rates.," *Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Progr.*, vol. 2017, no. 1, pp. 265–271, 2017.
- [53] "Leczenie doustne stanów nadmiaru organizmu żelazem." - program lekowy NFZ
- [54] J. B. Porter *et al.*, "Limitations of serum ferritin to predict liver iron concentration responses to deferasirox therapy in patients with transfusion-dependent thalassaemia," *Eur. J. Haematol.*, vol. 98, no. 3, pp. 280–288, Mar. 2017.
- [55] K. Korzeniowska, I. Wietlicka, and A. Jabłecka, "Zaburzenia gospodarki żelaza Część 2. Niedobory żelaza Disorders of iron balance. Part 2. Iron deficiency," 2012. *Farmacja współczesna* vol. 5, pp. 146-150, 2012
- [56] M. E. Elsayed, M. U. Sharif, and A. G. Stack, "Transferrin Saturation: A Body Iron Biomarker," *Advances in Clinical Chemistry*, vol. 75, Academic Press Inc., 2016, pp. 71–97.
- [57] C. Olchowy, J. Fraczkiewicz, M. Pawłowski, "Iron overload related diseases and methods of liver iron quantification," *Acta Haematol. Pol.*, vol. 48, no. 4, 2017.
- [58] K. Weigand and K. Weigand, "Percutaneous liver biopsy: retrospective study over 15 years comparing 287 inpatients with 428 outpatients.," *J. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 24, no. 5, pp. 792–9, May 2009.
- [59] B. Oshrine, L. E. Lehmann, and C. N. Duncan, "Safety and Utility of Liver Biopsy After Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation," *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, vol. 33, no. 3, pp. e92–e97, Apr. 2011.
- [60] N. Maximova, M. Gregori, F. Barbieri, A. Pizzol, and A. Sonzogni, "Safety and utility of percutaneous liver biopsy in hematopoietic stem cell transplant pediatric recipients: a retrospective study," *BMC Cancer*, vol. 16, no. 1, p. 590, Dec. 2016.
- [61] R. Axel, B. Chrisitine, B. Rudolf, B. Jens, C. Nathan, I. Laura, S. Kaveh, S. Mathias, V. Jean-Paul, "Role of liver magnetic resonance imaging in hyperferritinaemia and the diagnosis of iron overload," *Swiss Med Wkly*, vol. 147, p. 14550, 2017.
- [62] G. M. Brittenham *et al.*, "Efficacy of Deferoxamine in Preventing Complications of Iron Overload in Patients with Thalassemia Major," *N. Engl. J. Med.*, vol. 331, no. 9, pp. 567–573, Sep. 1994.
- [63] J. C. Iezzoni, "Diagnostic histochemistry in hepatic pathology," *Semin. Diagn. Pathol.*, vol. 35, no. 6, pp. 381–389, Nov. 2018.

- [64] J. M. Howard, C. N. Ghent, L. S. Carey, P. R. Flanagan, and L. S. Valberg, "Diagnostic efficacy of hepatic computed tomography in the detection of body iron overload.," *Gastroenterology*, vol. 84, no. 2, pp. 209–15, Feb. 1983.
- [65] X. F. Luo, X. Xie, S. Cheng, Y. Yang, H. Zhang, "Dual-Energy CT for Patients Suspected of Having Liver Iron Overload: Can Virtual Iron Content Imaging Accurately Quantify Liver Iron Content?," *Radiology*, vol. 277, no. 1, pp. 95–103, Oct. 2015.
- [66] J. M. Alústiza Echeverría, A. Castiella, and J. I. Emparanza, "Quantification of iron concentration in the liver by MRI," *Insights Imaging*, vol. 3, no. 2, pp. 173–180, Apr. 2012.
- [67] Y. Gandon *et al.*, "Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI," *Lancet*, vol. 363, no. 9406, pp. 357–362, Jan. 2004.
- [68] S. K. Venkatesh, M. Yin, and R. L. Ehman, "Magnetic resonance elastography of liver: technique, analysis, and clinical applications.," *J. Magn. Reson. Imaging*, vol. 37, no. 3, pp. 544–55, Mar. 2013.
- [69] P. Milkiewicz, "Elastografia wątroby w codziennej praktyce klinicznej," *Gastroenterol. Klin. Postępy i Stand.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–6, 2017.
- [70] P. L. Greenberg *et al.*, "NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: myelodysplastic syndromes.," *J. Natl. Compr. Canc. Netw.*, vol. 9, no. 1, pp. 30–56, Jan. 2011.
- [71] N. Gattermann, "Overview of guidelines on iron chelation therapy in patients with myelodysplastic syndromes and transfusional iron overload.," *Int. J. Hematol.*, vol. 88, no. 1, pp. 24–29, Jul. 2008.
- [72] "Desferal - charakterystyka produktu leczniczego,"
- [73] S. C. Davies, R. E. Marcus, J. L. Hungerford, M. H. Miller, G. B. Arden, and E. R. Huehns, "Ocular toxicity of high-dose intravenous desferrioxamine.," *Lancet (London, England)*, vol. 2, no. 8343, pp. 181–4, Jul. 1983.
- [74] M. Di Nicola, G. Barteselli, L. Dell'Arti, R. Ratiglia, and F. Viola, "Functional and Structural Abnormalities in Deferoxamine Retinopathy: A Review of the Literature.," *Biomed Res. Int.*, vol. 2015, p. 249617, 2015.
- [75] R. C. Hider and A. V. Hoffbrand, "The Role of Deferiprone in Iron Chelation," *N. Engl. J. Med.*, vol. 379, no. 22, pp. 2140–2150, Nov. 2018.
- [76] "Deferazyroks - charakterystyka produktu leczniczego,"
- [77] T. B. Assi and E. Baz, "Current applications of therapeutic phlebotomy," *Blood Transfus*, vol. 12, no. 1, pp. 75–83, 2014.
- [78] E. Carreras, C. Dufour, M. Mohty, and N. Kröger, "Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies The EBMT Handbook."

- [79] N. S. Majhail, H. M. Lazarus, and L. J. Burns, "Iron overload in hematopoietic cell transplantation," *Bone Marrow Transplantation*, vol. 41, no. 12. pp. 997–1003, Jun-2008.
- [80] E. Angelucci and F. Pilo, "Management of iron overload before, during, and after hematopoietic stem cell transplantation for thalassemia major," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1368, no. 1, pp. 115–121, Mar. 2016.
- [81] S. K.-K. Mirosław Markiewicz, "Allogeneic hematopoietic cell transplantation: current state and future perspectives," *Postępy Nauk Med.*, May 2011.
- [82] J. Wachowiak *et al.*, "Development and current use of in hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents in Poland: Report of the Polish pediatric study group for hematopoietic stem cell transplantation of the Polish society for pediatric oncology and hemato," *Transfusion and Apheresis Science*, vol. 57, no. 3. Elsevier Ltd, pp. 316–322, 01-Jun-2018.
- [83] GH De Souza, HL Ribeiro, De Sousa, "HFE gene mutation and oxidative damage biomarkers in patients with myelodysplastic syndromes and its relation to transfusional iron overload: an observational cross - sectional study", *BMJ*, 5 (4), 2015
- [84] R. Shouval *et al.*, "Outcomes of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation from HLA-matched and alternative donors: a European Society for Blood and Marrow Transplantation registry retrospective analysis," *Lancet Haematol.*, vol. 6, no. 11, pp. e573–e584, Nov. 2019.
- [85] M. Miano, M.Labopin, O.Hartmann., "Haematopoietic stem cell transplantation trends in children over the last three decades: A survey by the paediatric diseases working party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation," *Bone Marrow Transplant.*, vol. 39, no. 2, pp. 89–99, Jan. 2007.
- [86] L. Sankowska, Monika Kauc, *Transplatnacja Szpiku*. 2010.
- [87] K. Czyżewski, J.Fraczkiewicz, *et al.*, "Epidemiology and outcome of invasive fungal disease in children after hematopoietic cell transplantation or treated for malignancy: Impact of national programme of antifungal prophylaxis," *Mycoses*, vol. 62, no. 11, pp. 990–998, Nov. 2019.
- [88] J. Kanda, T. Ichinoche, K. Yamashita., "Pretransplant serum ferritin and C-reactive protein as predictive factors for early bacterial infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation," *Bone Marrow Transplant.*, vol. 46, no. 2, pp. 208–216, Feb. 2011.
- [89] E. Angelucci and F. Pilo, "Management of iron overload before, during, and after hematopoietic stem cell transplantation for thalassemia major," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1368, no. 1, pp. 115–121, Mar. 2016.

- [90] T. Nava, M. Ansari, JH Dalle, “Supportive care during pediatric hematopoietic stem cell transplantation: beyond infectious diseases. A report from workshops on supportive care of the Pediatric Diseases Working Party (PDWP) of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT),” *Bone Marrow Transplant.*, 2020.
- [91] K. S. Ruccione, K. Mudambi, R. Sposto, J. Fridey, S. Ghazarossian, and D. R. Freyer, “Association of projected transfusional iron burden with treatment intensity in childhood cancer survivors,” *Pediatr. Blood Cancer*, vol. 59, no. 4, pp. 697–702, Oct. 2012.
- [92] N. Gattermann and E. A. Rachmilewitz, “Iron overload in MDS-pathophysiology, diagnosis, and complications,” *Annals of Hematology*, vol. 90, no. 1. pp. 1–10, Jan-2011.
- [93] A. Altes, AF. Remacha, P. Salda, “Frequent severe liver iron overload after stem cell transplantation and its possible association with invasive aspergillosis,” *Bone Marrow Transplant.*, vol. 34, pp. 505–509, 2004.
- [94] K. Nottage, J. G. Gurney, M. Smeltzer, M. Castellanos, M. M. Hudson, and J. S. Hankins, “Trends in transfusion burden among long-term survivors of childhood hematological malignancies.” *Leuk Lymphoma* vol 8, No 54, pp 1719-1723
- [95] F. Bernard, P. Auquier, I. Herrmann., “Health status of childhood leukemia survivors who received hematopoietic cell transplantation after BU or TBI: an LEA study,” *Bone Marrow Transplant.*, vol. 49, pp. 709–716, 2014.
- [96] V. V. Maria Domenica Cappellini, Alan Cohen, John Porter, Ali Taher, “Guidelines for the Management of Transfusion Dependent Thalassaemia (TDT) 3rd Edition,” *Thalassaemia International Federation*, 2014. .
- [97] P. J. McKay, J. Murphy, S. Cameron, A K Burnett, M. Campbell, P. Tansey, I Franklin, “Iron overload and liver dysfunction after allogeneic or autologous bone marrow transplantation.,” *Bone Marrow Transplant.*, vol. 17, no. 1, pp. 63–6, Jan. 1996.
- [98] N. M. Butt and R. E. Clark, “Autografting as a risk factor for persisting iron overload in long-term survivors of acute myeloid leukaemia,” *Bone Marrow Transplant.*, vol. 32, no. 9, pp. 909–913, Nov. 2003.
- [99] L. Kornreich, G. Horev, I. Yaniv, J. Stein, M. Grunebaum, and R. Zaizov, “Iron overload following bone marrow transplantation in children: MR findings,” *Pediatr. Radiol.*, vol. 27, no. 11, pp. 869–872, Nov. 1997.

- [100] T. Chotsampancharoen, K. Gan, K. A. Kasow, R. C. Barfield, G. A. Hale, and W. Leung, "Iron overload in survivors of childhood leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation," *Pediatr. Transplant.*, vol. 13, no. 3, pp. 348–352, May 2009.
- [101] A. Jarisch, E. Salzmann, H. Cario, "Serum ferritin is not a reliable predictor to determine iron overload in thalassemia major patients post-hematopoietic stem cell transplantation," *Eur. J. Haematol.*, vol. 101, no. 6, pp. 791–797, Dec. 2018.
- [102] N. S. Majhail, J. Rizzo, S. Lee et al., "Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation," *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, vol. 34, no. 2. Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, pp. 109–133, 2012.
- [103] S. Sivgin and B. Eser, "The management of iron overload in allogeneic hematopoietic stem cell transplant (alloHSCT) recipients: where do we stand?," *Ann. Hematol.*, vol. 92, no. 5, pp. 577–86, May 2013.
- [104] S. T. Chou, M. Alswas, RM Fasano, et al., "American Society of Hematology 2020 guidelines for sickle cell disease: transfusion support," *Blood Adv.*, vol. 4, no. 2, pp. 327–355, Jan. 2020.
- [105] E. Angelucci et al., "Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major," *N. Engl. J. Med.*, vol. 343, no. 5, pp. 327–331, Aug. 2000.
- [106] J. A. Storey et al., "The transplant iron score as a predictor of stem cell transplant survival.," *J. Hematol. Oncol.*, vol. 2, p. 44, 2009.
- [107] P. Armand et al., "Prognostic impact of elevated pretransplantation serum ferritin in patients undergoing myeloablative stem cell transplantation," *Blood*, vol. 109, no. 10, pp. 4586–4588, May 2007.
- [108] K. Kataoka et al., "Influence of Pretransplantation Serum Ferritin on Nonrelapse Mortality after Myeloablative and Nonmyeloablative Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation," *Biol. Blood Marrow Transplant.*, vol. 15, no. 2, pp. 195–204, Feb. 2009.
- [109] O. Kondo et al., "Adverse Impact Of Elevated Pretransplantation Serum Ferritin Levels On Survival and Nonrelapse Mortality After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation In Children," *Blood*, vol. 122, no. 21, pp. 2168–2168, Nov. 2013.
- [110] V. Pullarkat et al., "Iron Overload Adversely Affects Survival and Increases Risk of Graft-Versus-Host Disease and Blood Stream Infections after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation.," *Blood*, vol. 110, no. 11, pp. 2981–2981, Nov. 2007.

- [111] D. P. Kontoyiannis *et al.*, “Increased bone marrow iron stores is an independent risk factor for invasive aspergillosis in patients with high-risk hematologic malignancies and recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation,” *Cancer*, vol. 110, no. 6, pp. 1303–1306, Sep. 2007.
- [112] J. R. Boelaert *et al.*, “Mucormycosis during deferoxamine therapy is a siderophore-mediated infection: In vitro and in vivo animal studies,” *J. Clin. Invest.*, vol. 91, no. 5, pp. 1979–1986, 1993.
- [113] N. Singh and H.-Y. Sun, “Iron overload and unique susceptibility of liver transplant recipients to disseminated disease due to opportunistic pathogens,” *Liver Transplant.*, vol. 14, no. 9, pp. 1249–1255, Sep. 2008.
- [114] B. Spellberg *et al.*, “The deferasirox-AmBisome therapy for mucormycosis (Defeat Mucor) study: A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 67, no. 3, pp. 715–722, Mar. 2012.
- [115] B. J. Trottier, L. J. Burns, T. E. De For, S. Cooley, and N. S. Majhail, “Association of iron overload with allogeneic hematopoietic cell transplantation outcomes: A prospective cohort study using R2-MRI-measured liver iron content,” *Blood*, vol. 122, no. 9, pp. 1678–1684, Aug. 2013.
- [116] J. W. Lee, H. J. Kang, E. K. Kim, H. Kim, H. Y. Shin, and H. S. Ahn, “Effect of iron overload and iron-chelating therapy on allogeneic hematopoietic SCT in children,” *Bone Marrow Transplant.*, vol. 44, no. 12, pp. 793–797, Dec. 2009.
- [117] M. D. Cappellini *et al.*, “Tailoring iron chelation by iron intake and serum ferritin: The prospective EPIC study of deferasirox in 1744 patients with transfusion-dependent anemias,” *Haematologica*, vol. 95, no. 4, pp. 557–566, Apr. 2010.
- [118] N. Jaekel *et al.*, “Efficacy and safety of deferasirox in non-thalassemic patients with elevated ferritin levels after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation,” *Bone Marrow Transplant.*, vol. 51, no. 1, pp. 89–95, Jan. 2016.
- [119] M. A. Yesilipek *et al.*, “A Phase II, Multicenter, Single-Arm Study to Evaluate the Safety and Efficacy of Deferasirox after Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children with β -Thalassemia Major,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, vol. 24, no. 3, pp. 613–618, Mar. 2018.
- [120] N. Maximova *et al.*, “Safety and tolerability of deferasirox in pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients: One facility’s five years’ experience of chelation treatment,” *Oncotarget*, vol. 8, no. 38, pp. 63177–63186, 2017.

- [121] E. Vichinsky *et al.*, “Long-term safety and efficacy of deferasirox in young pediatric patients with transfusional hemosiderosis: Results from a 5-year observational study (ENTRUST),”
Pediatr. Blood Cancer, vol. 64, no. 9, p. e26507, Sep. 2017.
- [122] A. T. Taher *et al.*, “New Film-Coated Tablet Formulation of Deferasirox Is Well Tolerated in Patients with Thalassemia or MDS: Results of the Randomized, Phase II E.C.L.I.P.S.E. Study,”
Blood, vol. 128, no. 22, pp. 1285–1285, Dec. 2016.
- [123] A. Altè *et al.*, “Iron overload Iron overload might increase transplant-related mortality in haematopoietic stem cell transplantation,”
Bone Marrow Transplant., vol. 29, pp. 987–989, 2002.
- [124] N. Gattermann, “Iron overload in myelodysplastic syndromes (MDS)”
Int Jour of Hemat., 107, pp 5-63, 2018.