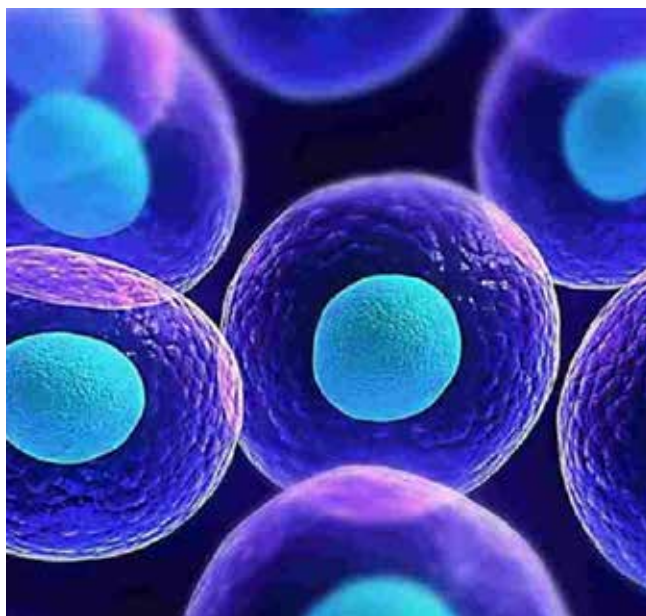


**АЛОГЕННАТА ТРАНСПЛАНТАЦИЯ НА ХЕМОПОЕТИЧНИ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ** (ало-ТХСК) е процедура, при която хемopoетичната и имунната системи на дарителя заместват тези на приемателя. Реакцията на присадката срещу приемателя (GvHD, Graft versus Host Disease) представлява отговора на донорските имунокомпетентни клетки към „непознати“ за нея тъкани и органи (тези на реципиента). Острата GvHD е сериозно и потенциално фатално усложнение след ало-ТХСК. Основни рискови фактори са степента на HLA несъвместимост между дарителя и приемателя, използването на неродствен донор, повишаването на интензитета на кондициониращия режим. Патогенезата включва активация на донорски Т-лимфоцити, пролиферацията им и последващата им атака срещу тъканите и органи на реципиента. Въпреки навлизането на нови молекули в лечението на това усложнение, гръбнакът на терапията си остават системните кортикостероиди.



## ОСТРА РЕАКЦИЯ НА ПРИСАДКАТА СРЕЩУ ПРИЕМАТЕЛЯ

СЪЩНОСТ, ПАТОГЕНЕЗА  
И РИСКОВИ ФАКТОРИ,  
ТЕРАПЕВТИЧНИ  
ВЪЗМОЖНОСТИ

**г-р Красен Венков,  
г-р Камелия  
Милчева,  
г-р Иван Тонев**

Отделение за  
трансплантация  
на хемopoетични  
стволови клетки,  
Специализирана  
болница за активно  
лечение на хемато-  
логични заболявания,  
СБАЛХЗ, гр. София

**Ключови думи:**  
ало-ТХСК, GvHD

**П**ървото описание на острата реакция на присадката срещу приемателя (Acute Graft versus Host Disease – aGvHD) датира още от 50-те години на 20-ти век, когато се споменава т.нар. „вторична болест“, която се появява след трансплантация на костен мозък от здрави на цялостно облъчени мишки<sup>[1]</sup>. Проявява се с диария, безапетитие, отслабване на телло и в крайна сметка води до смърт<sup>[1]</sup>.

През 60-те години Билингам очертава необходимите условия за възникването на GvHD<sup>[2]</sup>:

- Присадката трябва да съдържа имунокомпетентни клетки.
- Необходимо е генетично различие между присадката и приемателя.
- Приемателят трябва да е имуносупресирани, за да не може да отхвърли присадката.

Най-често aGvHD възниква след алогенна трансплантация на хемopoетични стволови клетки (ало-ТХСК). Освен това, такава реакция може да се получи при трансфузия на кръвни съставки, особено ако те не са облъчени и се преливат на HLA (Human

Leukocyte Antigen) съвместим индивид<sup>[3]</sup>. Също така при органна трансплантация, когато се съдържат повече левкоцити в графта (при чернодробни и чревни трансплантации), може да се причини такава реакция<sup>[4,5]</sup>. В този обзор обаче ще се спрем на GvHD и по-точно острата реакция на присадката срещу приемателя след ало-ТХСК, ще очертаем в основни линии патогенезата, някои рискови фактори и ще посочим възможни терапевтични подходи за овладяване на това потенциално фатално усложнение.

Реакцията на присадката срещу приемателя е основната причина за TRM (Transplant Related Mortality, смъртност вследствие на трансплантацията) след ало-ТХСК. Има два основни вида GvHD, които могат да възникнат след ало-ТХСК, а именно острата и хроничната реакция на присадката срещу примателя. Острата се дели на класическа aGvHD, която възниква в първите 100 дни след трансплантацията и на късна (late aGvHD), която се проявява след този период<sup>[6]</sup>.

За пълно разбиране патогенезата на aGvHD е необходимо първо да се осъзнае същността на ало-ТХСК. В присадката (графта) освен наличните хемопоеетични стволови и прогениторни клетки, са налице (даже в по-голямо количество) и имунокомпетентни клетки от донора, основно Т-лимфоцити. Именно те са в основата на GvHD, която представлява алоимунна реакция – донорните лимфоцити разпознават като „чужди“ нормалните тъкани и органи на реципиента и ги атакуват. За разлика от органната трансплантация, където е необходима имunosупресия до живот, с цел превенция на отхвърлянето на присадката, при ало-ТХСК се подменя имунната система на реципиента и при идеалните условия е възможно спирането на имunosупресивната терапия, за да се достигне до т.нар. имунен толеранс, състояние на възстановени имунни функции при липса на GvHD.

Преди да разгледаме малко по-подробно патогенезата на aGvHD, сме длъжни да кажем, че все още има доста бели петна около конкретните механизми, молекули и медиатори, които движат патологичния процес. Острата реакция на присадката срещу приемателя може да се

представи, като протичаща в три фази. Първият основен момент е увредата от кондициониращия режим на здравите тъкани в цялото тяло и особено лигавицата на гастроинтестиналния тракт (ГИТ). Следва активация на антиген-представящи клетки (АПК) на донора и най-вече на реципиента (останали след кондициониращия режим), с представяне на алоантигени и активиране на Т-лимфоцитите на донора (част от новата имунна система на реципиента). В третата стъпка се мобилизират ефекторни клетки, които директно и/или индиректно водят до тъканната увреда и клиничните манифестации на aGvHD<sup>[7,8]</sup>.

В първата фаза основна роля играе токсичният ефект за нормалните тъкани на кондициониращия режим, който предшества ало-ТХСК. Колкото по-интензивен е той, толкова по-висок е рискът за развитие на GvHD<sup>[7]</sup>. Използването на високи дози целотелесно облъчване (Total Body Irradiation, TBI) например, е доказано, че увеличава значително риска за развитие на GvHD<sup>[9]</sup>. Агентите, използващи се в подготвителните режими (TBI, химиотерапевтици), водят до увреда на епителните клетки на ГИТ, които от своя страна отделят т.нар. DAMPs (Damage-Associated Molecular Patterns), които активират Т-лимфоцитите на донора. Такива молекули са например АТФ, пикочна киселина, интерлевкин-33 (IL-33) и други, които активират съответните рецептори на Т-лимфоцитите, за АТФ – P2X7 и P2Y2, NOD3 за пикочната киселина, ST2 за IL-33 и това води до екзацербация на GvHD<sup>[10]</sup>. Освен DAMPs значимата роля за развитието на aGvHD имат и PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns), както са липополизахаридите, които

се отделят от бактериите, намиращи се в ГИТ<sup>[10]</sup>. PAMPs се свързват с Toll-Like Receptors (TLR) и NOD рецепторния апарат на АПК (най-вече дендритни клетки на реципиента), които от своя страна презентират алоантигени на Т-лимфоцитите (от донора) и ги активират<sup>[10]</sup>. Дендритните клетки могат да презентират различни протеини, като при HLA съвместима ало-ТХСК единствено различията и имуногенността на презентираните пептиди определят степента на Т-клетъчна активация, докато при HLA несъвместимост най-вече по HLA A, B, C и DRB1 локусите, цялата HLA молекула експресирана на АПК и пептидът, който тя презентира на Т-лимфоцитите, водят до много по-силна стимулация на последните, а оттам и до по-тежък GvHD. В последната фаза, основно CD8+ Т-клетки, чрез отделяне на перфорин и гранзим В и CD4+ Т-клетки, чрез отделяне на TNF-алфа, предизвикват апоптоза на епителните клетки и водят до клиничната проява на GvHD<sup>[11,12]</sup>. Тъканната увреда от GvHD води до отделяне на още DAMPs, PAMPs, транслокация на бактерии от ГИТ през нарушената епителна бариера, допълнителна активация на АПК и Т-лимфоцити. От казаното до тук става ясно, че реакцията на присадката на приемателя, макар и за по-лесно възприемане да се разделя на три фази, в реалността те са един непрекъснат континуум и преливат една в друга, без да могат ясно да се разграничат. Тук е и моментът да споменем, че бактериите в ГИТ, чрез различни метаболити и сигнални молекули, могат да имат и протективна роля по отношение на GvHD и това им свойство, както ще разберем малко по-късно, може да се използва при лечението на рефрактерна на стандартна терапия GvHD<sup>[10]</sup>.

След очертаване в основни линии на патогенезата на GvHD, относително лесно можем да открием рисковите фактори за това потенциално фатално усложнение. Тъй като това е алоимунна реакция, колкото „по-различни“ един от друг са донорът и реципиентът, т.е. при несъвместимост по всеки един от локусите HLA A, B, C и DRB1, толкова рискът за тежка GvHD е по-голям<sup>[9]</sup>. Статистически значим рисков фактор е и провеждане на ало-ТХСК от напълно съвместим неродствен донор (в сравнение с напълно съвместим родствен)<sup>[9]</sup>. Интензивният на кондициониращия режим вече го спомнахме, а друг рисков фактор, до който логично можем да стигнем, е броят на Т-лимфоцитите в графта. Установено е, че при редуцирането им няколко десетки пъти, значимо се понижава честотата и тежестта на GvHD<sup>[13,14]</sup>. Нормално е, човек да си зададе въпросът защо тогава не редуцираме до минимум Т-лимфоцитите в графта щом помага за контрола на GvHD? Отговорът се крие там, че основните индикации за ало-ТХСК при възрастни са малигнените хемопатии и както токсичността, така и ползите в дългосрочен план за контрол на заболяването, се крият в т. нар. GvL ефект (Graft versus Leukemia), т.е. намаляването на Т-лимфоцитите в графта, води и до по-висок риск от рецидив на заболяването, а освен това и от по-висока честота на инфекциозни усложнения<sup>[15,16]</sup>.

Клинично aGvHD в повечето случаи обхваща кожата, горния и долния ГИТ, черния дроб, като може да бъде засегнат един, няколко или всички органи<sup>[7]</sup>. По-рядко може да протече с белодробно засягане, ЦНС ангажиране и др.<sup>[17,18]</sup>. Кожната форма на aGvHD протича с дифузен макуло-папулозен кожен обрив, най-често пър-



во започва от дланите и стъпалата, който може да е сърбящ и болезнен при някои случаи, а в тежките форми да доведе до формиране на були и десквамация<sup>[7]</sup>. Засягането на горните отдели на ГИТ се характеризира с гадене, повръщане, безапетитие, невъзможност за хранене, затруднено преглъщане и др.<sup>[7]</sup>. При засягане на долния ГИТ се разгъва клиничната картина на един тежък диарийен и малабсорбционен синдром, който е и основната причина за смъртност вследствие на aGvHD. Чернодробното ангажиране е по типа на холестазна увреда, със или без хипербилирубинемия, често и с нарушения в синтезната функция на хепатоцитите<sup>[7]</sup>. Взимайки предвид тежестта на увредата при всеки таргетен орган (% от телесната повърхност, засегната от обрива, стойностите на серумния билирубин, общото количество диарийни изхождания и/или наличието на примеси кръв), се определя тежестта и стадият на aGvHD<sup>[19]</sup>.

Както разбрахме, GvHD е едно много сериозно усложнение и с цел превенцията му са разработени различни имunosупресивни режими, както и различни методи за манипулация

на графта, на които обаче няма да се спираме в този обзор.

Острата реакция на присадката срещу приемателя е едно потенциално фатално усложнение след ало-ТХСК и изисква своевременно започване на лечение. Първи стадий aGvHD с кожно засягане може да бъде лекуван само с локално приложение на кортикостероиди<sup>[20]</sup>. В основата на терапията и като медикамент на първи избор за системна терапия на aGvHD са кортикостероидите (КС)<sup>[20]</sup>. Стандартната дозировка е 2 mg/kg/дневно метилпреднизолон или 2-2.5 mg/kg/дневно преднизон, като в проучвания е установено, че използването на по-високи дози КС не води до по-добра преживяемост за пациентите<sup>[20,21]</sup>. При определени условия (II<sup>pu</sup> стадий aGvHD с кожно или изолирано засягане на горен ГИТ) е възможно използването на по-ниски дози КС – 0.5-1 mg/kg метилпреднизолон, без това да води до по-лош изход за болните<sup>[20,22]</sup>. Според европейските препоръки при aGvHD със засягане на ГИТ, е уместно добавянето на локално действащ КС (будезонид или беклометазон) към системната стероидна терапия<sup>[20]</sup>. Дискусионен остава въпросът за продължител-

ността и стъпката за редуциране на дозата на КС. Съгласно препоръките на Американското дружество за костно-мозъчна трансплантация при добър контрол на aGvHD може да се редуцира дозата с 0.2 mg/kg преднизон (или еквивалентно количество метилпреднизолон) на всеки 3-5 дни, като е уместно забавяне на стъпката при достигане на доза от 20-30 mg/дневно преднизон<sup>[23]</sup>. Без редукация в дозата на КС в първите 7 дни от започване на терапията и при добър контрол на aGvHD достигане на 10% от началната доза на стероидите в рамките на около 28 дни от началото на лечението, са препоръките от името на европейската асоциацията по костно-мозъчна трансплантация<sup>[20]</sup>. Около 40-50% е степента на постигане на пълен отговор след приложението на КС<sup>[7]</sup>. При останалите пациенти се налага преминаване към втора линия терапия. Единственият медикамент, който е одобрен за тази индикация от FDA (Food and Drug Administration) е JAK1/2 инхибиторът ruxolitinib. Фаза 3 рандомизирано проучване – REACH2, сравняващо ruxolitinib срещу ВАТ (Best Available Therapy), показва по-висока честота на постигнат отговор на 28<sup>миср</sup> и 56<sup>миср</sup> ден от началото на терапията при пациентите, лекувани с ruxolitinib. Препоръките на FDA за терапията на aGvHD с ruxolitinib са да се започне с доза 2x5 mg/дневно/p.os, която може да бъде увеличена до 2x10 mg/дневно/p.os при липса на нежелани реакции и/или спад в неутрофилите и/или тромбоцитите с 50 и повече процента от стойностите им преди началото на терапията. Лечението е уместно да продължи поне 6 месеца, като при контрол на заболяването може да се започне постепенно редуциране на дозата и спиране на медикамента<sup>[24]</sup>.

Европейските препоръки не посочват конкретен лечебен подход като втора линия терапия при неуспех на КС в лечение на aGvHD<sup>[20]</sup>. Измежду доста различни опции, включително и ruxolitinib, те препоръчват отделните центрове да следват собствените си алгоритми при лечението на тези пациенти<sup>[20]</sup>. Интересна възможност за последваща линия терапия при неуспех на КС, е трансплантацията на фекална микробиота. Както споменахме в частта с патогенезата, бактериите в ГИТ могат да имат и протективна роля по отношение на aGvHD и именно това им свойство се използва при този метод на лечение. Възстановяването на микробиологичния баланс в ГИТ, може да доведе до повлияване на реакцията на присадката срещу приемателя. Данни от френска група изследователи показват, че дори при двойно рефрактерни пациенти (т.е. преминали през КС и ruxolitinib), чрез трансплантацията на фекална микробиота се достига до 31% пълен отговор, което дава надежди за напред, че тази изключително трудна за повлияване група болни имат шанс за добър изход<sup>[25]</sup>.

В заключение можем да кажем, че въпреки ненапълно изяснените патогенетични механизми и рискови фактори, терапевтичните възможности за повлияване на aGvHD се увеличават и се надяваме в бъдеще за все повече пациенти да успяваме да намерим правилното лечение. ■

#### Книгопис:

- Barnes D, Loutit J. Spleen protection: the cellular hypothesis. In: Bacq ZM, Alexander P (eds.) Radiobiology Symposium. London: Butterworth, 1955, pp. 34-40.
- Billingham RE. The biology of graft-versus-host reactions. Harvey Lect. 1966-1967;62:21-78. PMID: 4875305.
- Delaney M, Wendel S, Bercovitz R.S, Cid J, Cohn C, Dunbar, N.M, et al. Transfusion reactions: prevention, diagnosis, and treatment. Lancet 2016;388:2825-36.
- Mazariegos GV, Abu-Elmagd, K., Jaffe R, Bond G, Sindhi R, Martin L,

- Macedo C, Peters J, Girmila A, Reyes J. Graft versus host disease in intestinal transplantation. Am J Transplant 2004;4:1459.
- Taylor AL, Gibbs P, Bradley J.A. Acute graft versus host disease following liver transplantation: the enemy within. Am J Transplant 2004;4:466.
- Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. Biol Blood Marrow Transplant. 2005;11:945-56.
- Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N, editors. The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies [Internet]. 7th ed. Cham (CH): Springer; 2019. PMID: 32091673.
- Forman J, Negrin R, Antin J, Appelbaum F, editors. Thomas' Hematopoietic cell transplantation, Wiley-Blackwell; 5. edition (26 Feb. 2016). ISBN: 978-1118416006.
- Flowers ME, Inamoto Y, Carpenter PA, et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. Blood. 2011;117:3214-9.
- Zeiser R, Blazar BR. Acute Graft-versus-Host Disease – Biologic Process, Prevention, and Therapy. N Engl J Med. 2017 Nov 30;377(22):2167-2179. doi: 10.1056/NEJMra1609337. PMID: 29171820; PMCID: PMC6034180.
- Baker MB, Altman NH, Podack ER, Levy RB. The role of cell-mediated cytotoxicity in acute GVHD after MHC-matched allogeneic bone marrow transplantation in mice. J Exp Med 1996; 183: 2645-56.
- Graubert TA, DiPersio JF, Russell JH, Ley TJ. Perforin/granzyme-dependent and independent mechanisms are both important for the development of graft-versus-host disease after murine bone marrow transplantation. J Clin Invest 1997; 100: 904-11.
- Wagner JE, Santos GW, Noga SJ, Rowley SD, Davis J, Vogelsang GB, Farmer ER, Zehnbauser BA, Saral R, Donnerberg AD. Bone marrow graft engineering by counterflow centrifugal elutriation: results of a phase I-II clinical trial. Blood. 1990 Mar 15;75(6):1370-7. PMID: 2310834.
- Kern NA, Collins NH, Juliano L, Cartagena T, Dupont B, O'Reilly RJ. Clonable T lymphocytes in T cell-depleted bone marrow transplants correlate with development of graft-versus-host disease. Blood. 1986 Sep;68(3):770-3. PMID: 3527302.
- Marmont AM, Horowitz MM, Gale RP, et al. T cell depletion of HLA identical transplants in leukemia. Blood 1991; 78: 2120-2130.
- Goldman JM, Gale RP, Horowitz MM, et al. Bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia in chronic phase. Increased risk for relapse associated with T cell depletion. Ann Intern Med 1988; 108: 806-814.
- Gronningsæter IS, Tsykunova G, Lilleeng K, Ahmed A.B, Bruserd, Ø., Reikvam, H. Bronchiolitis obliterans syndrome in adults after allogeneic stem cell transplantation: pathophysiology, diagnostics and treatment. Expert Rev Clin Immunol 2017;doi:10.1080/1744666X.2017.1279053.
- Kamble RT, Chang, C.C., Sanchez, S., et al. Central nervous system graft-versus-host disease: report of two cases and literature review. Bone Marrow Transplant 2007;39:49-52.
- Przeziorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hovs J, Thomas ED. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grafting. Bone Marrow Transplant. 1995 Jun;15(6):825-8. PMID: 7581076.
- Penack O, Marchetti M, Ruutu T, Aljurf M, Bacigalupo A, Bonifazi F, Ciceri F, Cornelissen J, Malladi R, Duarte RF, Giebel S, Greinix H, Holler E, Lawitschka A, Mielke S, Mohty M, Arat M, Nagler A, Passweg J, Schoemans H, Socié G, Solano C, Vrhovac R, Zeiser R, Kröger N, Basak GW. Prophylaxis and management of graft versus host disease after stem-cell transplantation for hematological malignancies: updated consensus recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. Lancet Haematol. 2020 Feb;7(2):e157-e167. doi: 10.1016/S2352-3026(19)30256-X. PMID: 32004485.
- Van Lint MT, Uderzo C, Locasciulli A, Majolino I, Scimé R, Locatelli F, Giorgiani G, Arcese V, Iori AP, Falda M, Bosi A, Miniero R, Alessandrino P, Dini G, Rotoli B, Bacigalupo A. Early treatment of acute graft-versus-host disease with high- or low-dose 6-methylprednisolone: a multicenter randomized trial from the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. Blood. 1998 Oct 1;92(7):2288-93. PMID: 9746766.
- Mielcarek M, Furlong T, Storer BE, Green ML, McDonald GB, Carpenter PA, Flowers ME, Storb R, Boeckh M, Martin PJ. Effectiveness and safety of lower dose prednisone for initial treatment of acute graft-versus-host disease: a randomized controlled trial. Haematologica. 2015 Jun;100(6):842-8. doi: 10.3324/haematol.2014.118471. Epub 2015 Feb 14. PMID: 25682602; PMCID: PMC4450631.
- Martin PJ, Rizzo JD, Wingard JR, Ballen K, Curtin PT, Cutler C, Litwack MR, Nieto Y, Savani BN, Schriber JR, Shaughnessy PJ, Wall DA, Carpenter PA. First- and second-line systemic treatment of acute graft-versus-host disease: recommendations of the American Society of Blood and Marrow Transplantation. Biol Blood Marrow Transplant. 2012 Aug;18(8):1150-63. doi: 10.1016/j.bbmt.2012.04.005. Epub 2012 Apr 14. PMID: 22510384; PMCID: PMC3404151.
- Jakafi (Ruxolitinib) Label – Accessdata.fda.gov – https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\_docs/label/2019/202192s0171b1.pdf
- Malard F., et al. 422 Successful and Safe Treatment of Intestinal Graft-Versus-Host Disease (GVHD) with Pooled-Donor Full Ecosystem Microbiota Biotherapeutic: Results from a 29 Patient-Cohort of a Compassionate Use/Expanded Access Treatment Program, ASH 2020 Abstract.