

Leczenie sterydoopornej ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi

Treatment of steroid-resistant acute graft-versus-host disease

Лечение стеридорезистентной острой болезни „трансплантат против хозяина”

Ośrodek Przeszczepiania Szpiku Kliniki Onkologii, Wojskowy Instytut Medyczny.

Kierownik Ośrodka Przeszczepiania Szpiku CSK MON WIM: prof. nadzw. dr hab. n. med. Piotr Rzepecki

Correspondence to: Prof. nadzw. dr hab. n. med. Piotr Rzepecki, ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa, tel./faks: 22 681 65 59, 22 610 30 98,

e-mail: piotr_rzepecki@poczta.onet.pl

Source of financing: Department own sources

Streszczenie

Zastosowanie przeszczepiania alogenicznych komórek macierzystych krwiotworzenia stale wzrasta z uwagi na stały postęp technik medycznych, pozwalających na kwalifikację do wykonania tej procedury u chorych, którzy uprzednio mieli do niej przeciwwskazania. Jest ona z powodzeniem stosowana w leczeniu wielu nowotworów hematologicznych oraz innych schorzeń. Nadal poważnym problemem pozostaje rozwój choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD) jako powikłanie użycia tej formy terapii. Leczeniem z wyboru ostrej postaci GvHD w stopniu II-IV są glikokortykoidy (prednizolon) w dawce 1-2 mg/kg/dziennie, w połączeniu z inhibitorami kalcyneuryny (cyklosporyna A lub takrolimus). Chorzy sterydooporni stanowią bardzo poważny problem terapeutyczny, wymagają bowiem nasilenia immunosupresji. Standard postępowania u tych pacjentów zależy od doświadczeń ośrodka leczącego i zazwyczaj obowiązuje indywidualne podejście do chorego. Brakuje kontrolowanych badań klinicznych udowadniających wpływ na przeżycie konkretnego postępowania ratunkowego w leczeniu sterydoopornej ostrej GvHD. Można zastosować w tej sytuacji: kwas mykofenolowy, metotreksat, cyklofosfamid, pentostatynę, inhibitory mTOR, przeciwciała przeciwko TNF- α czy IL-2 oraz mono- i poliklonalne przeciwciała skierowane przeciwko limfocytom T. Opcje nefarmakologiczne obejmują użycie zewnątrzustrojowej fototerapii czy alogenicznych mezenchymalnych komórek macierzystych. W celu poprawy jego skuteczności leczenie ratunkowe w przypadku stwierdzenia sterydooporności powinno być zastosowane jak najszybciej, najlepiej w ciągu 2 tygodni od rozpoznania GvHD. Niemniej jednak ogólna skuteczność i toksyczność większości podejść terapeutycznych są niezadowalające. Przyszłość to zastosowanie regulatorowych limfocytów T czy użycie małych cząsteczek wpływających na przekazywanie sygnału pomiędzy komórkami prezentującymi antygen a komórkami efektorowymi.

Słowa kluczowe: ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi, leczenie ratunkowe, przeszczepienie alogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych, mezenchymalne komórki macierzyste, zewnątrzustrojowa fototerapia

Summary

Use of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is increasing continuously as a consequence of continuing progress of medical techniques, allowing implementation of this procedure even in patients where previously it was considered contraindicated. It is successfully used in the treatment of both several hematologic malignancies and other conditions. Still, a major concern remains the development of graft-versus-host disease (GvHD) as a complication of this kind of therapy. Treatment of choice in acute forms of stage II-IV GvHD are steroids (prednisolone, 1-2 mg/kg/d) combined with calcineurin inhibitors (cyclosporine A or tacrolimus). Steroid-resistant patients constitute a considerable therapeutic challenge, as they require enhanced immunosuppression. Standard management of these patients depends on experiences of particular center and usually an individual therapeutic strategy is warranted. No controlled clinical trials are available, documenting a favorable effect on survival of a particular salvage procedure in the setting of a steroid-resistant GvHD. In this situation, the following agents may be used: mycophenolate mofetil, methotrexate, pentostatin, mTOR inhibitors, anti-TNF- α and anti-IL-2 antibodies as well as mono- and polyclonal anti-T-lymphocyte antibodies. Non-pharmacological options include the use of extracorporeal photopheresis and infusion of allogeneic mesenchymal stem cells. In order to improve its effectiveness, salvage therapy should be instituted as quickly as

possible, at best during the first 2 weeks after diagnosis of GvHD. Nevertheless, overall effectiveness and toxicity of most therapeutic modalities are far from satisfactory. Current research focuses on regulatory T-lymphocytes and small molecules affecting signal transmission between antigen-presenting cells and effector cells.

Key words: acute graft-versus-host disease, salvage treatment, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, mesenchymal stem cells, extracorporeal photopheresis

Содержание

Применение для трансплантации аллогенных кроветворных стволовых клеток непрерывно увеличивается ввиду постоянного прогресса медицинских технологий, позволяющих квалифицировать для проведения данной процедуры больных, у которых в прошлом они были противопоказаны. Успешно данная процедура применяется в лечении многочисленных гематологических опухолей, а также при других заболеваниях. Серьезной проблемой продолжает оставаться развитие реакции „трансплантат против хозяина” (РТПХ/GvHD), как осложнение применения этой формы терапии. Для лечения по выбору острой формы GvHD II-IV степени применяются глюкокортикоиды (преднизолон) в дозе 1-2 мг/кг/день в комбинации с ингибиторами на кальциевый канал (циклоспорин А или такролимус). Стеридорезистентные больные являются очень серьезной терапевтической проблемой, так как они нуждаются в усилении иммуносупрессии. Стандартная терапия у этих пациентов зависит от опыта медицинского центра и обычно предусматривает обязательный индивидуальный подход к больному. Контролируемые клинические исследования, доказывающие влияние конкретного спасательного воздействия на выживаемость в лечении стеридорезистентной острой GvHD, отсутствуют. В данной ситуации возможно применение: микофеноловой кислоты, метотрексата, циклофосфида, пентостатина, ингибиторов mTOR, антител против TNF- α или IL-2, а также моно- и поликлональных антител, направленных против лимфоцитов Т. Нефармакологические опции охватывают использование внеорганической фототерапии или аллогенных мезенхимальных стволовых клеток. В случае констатации стеридорезистентности для улучшения эффективности спасательного лечения его следует применить как можно скорее, лучше в течение 2 недель с момента диагностирования GvHD. Тем не менее, общая эффективность и токсичность большинства терапевтических подходов неудовлетворительны. Будущее это применение регуляторных лимфоцитов Т или использование малых частиц, влияющих на передачу сигнала между клетками, представляющими антиген, и эффекторными клетками.

Ключевые слова: острая болезнь „трансплантат против хозяина”, спасательное лечение, трансплантация аллогенных кроветворных стволовых клеток, мезенхимальные стволовые клетки, внеорганическая фототерапия

Ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (aGvHD) stanowi najczęstsze powikłanie po przeszczepieniu alogenicznych komórek krwiotwórczych (HSCT). aGvHD może wystąpić pomimo agresywnego leczenia immunosupresyjnego stosowanego w profilaktyce jej rozwoju, nawet gdy dawca i biorca są rodzeństwem i są w pełni zgodni w akresie antygenów HLA. Jest ona konsekwencją interakcji pomiędzy komórkami biorcy prezentującymi antygen a przeszczepionymi limfocytami T dawcy. Częstość występowania klinicznie istotnej (stopnie II-IV) aGvHD wynosi około 40%, lecz zmienia się w zależności od obecności określonych czynników ryzyka w zakresie 10-80% (tabela 1)⁽¹⁻²⁾. Aktualny stan wiedzy o patogenezie reakcji aGvHD jest ograniczony. Na podstawie badań eksperymentalnych i klinicznych wiadomo, jakie są podstawowe warunki wystąpienia reakcji GvH oraz jakie komórki i antygeny odgrywają główne role⁽¹⁻³⁾.

Aby wystąpiła reakcja GvHD między dawcą a biorcą, muszą być spełnione następujące warunki:

1. biorca jest niedostatecznie immunologicznie kompetentny, aby odrzucić komórki dawcy;
2. biorca ma antygeny będące celem dla aloreaktywnych komórek dawcy;

Acute graft-versus-host disease (GvHD) is the most frequent complication of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). Acute GvHD may occur in spite of aggressive immunosuppressive management used in order to prevent it, even if donor and recipient are siblings and are entirely concordant in HLA antigens. It is a consequence of interaction between recipient's antigen-presenting cells and donor's transplanted T-lymphocytes. The incidence of clinically significant aGvHD (grades II-IV) is about 40%, but changes depending on the presence of definite risk factors in the 10-80% range (table 1)^(1,2). Current understanding of sGvHD pathogenesis is limited. Experimental and clinical studies enabled determination of principal factors favoring development of GvH reaction as well as cell types and antigens playing the main roles⁽¹⁻³⁾.

For a GvHD reaction between donor and recipient, the following conditions must be fulfilled:

1. recipient is not enough immunologically competent to reject donor cells;
2. recipient has antigens which are targets for alloreactive donor cells;
3. donor cell are immunologically competent enough to elicit an immune reaction.

Dawca Donor	Biorca Recipient
Rodzaj dawcy (niespokrewniony > spokrewniony) Type of donor (non-related > related) Kobieta jako dawczyni dla mężczyzny Female donor for male recipient Aloimmunizacja (porody, przetoczenia) Alloimmunization (births, transfusions) Źródło krwiotwórczych komórek macierzystych (krew obwodowa > szpik kostny > krew pępowinowa) Source of hematopoietic stem cells (peripheral blood > bone marrow > umbilical cord blood) Aloreaktywność komórek NK Alloreactivity of NK cells	Wiek (starszy > młodszy) Age (older > younger) Rodzaj reżimu przygotowawczego (TBI mieloablacyjny > reżim mieloablacyjny bez TBI > reżimy niemieloablacyjne) Type of conditioning regimen (myeloablative TBI > myeloablation without TBI > non-myeloablative regimen) Profilaktyka choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi Prevention of GvHD CMV, środowisko mikrobiologiczne organizmu CMV, microbiological environment of host organism Genetyczne predyspozycje Genetic susceptibility

Tabela 1. Czynniki ryzyka rozwoju choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi

Table 1. Risk factors for the development of GvHD

3. komórki dawcy są wystarczająco immunokompetentne, aby wywołać odpowiedź immunologiczną.
- Wśród elementów komórkowych najważniejsze role odgrywają:
4. limfocyty T CD4 i T CD8;
5. komórki NK obecne w dużych liczbach we krwi i skórze;
6. komórki prezentujące antygen (APC), licznie reprezentowane w skórze i błonach śluzowych.

OBJAWY KLINICZNE⁽¹⁾

Pierwsze objawy ostrej reakcji GvH występują zazwyczaj z chwilą początkowych objawów regeneracji układu białokrwinkowego, najczęściej nie wcześniej niż po 2 tygodniach od podania przeszczepu. Przeważnie występuje rumień na twarzy i tych częściach ciała, które były narażone na działanie promieni słonecznych. Wcześniej pojawiają się też objawy jelitowe. W razie niekorzystnego rozwoju zmiany skórne nasilają się, doprowadzając w skrajnych przypadkach do uszkodzeń podobnych do pęcherzycy. Zmiany w przewodzie pokarmowym mogą przybierać różne nasilenie aż do wyniszczających biegunk podobnych w przebiegu do *colitis ulcerosa*.

Zmiany wątrobowe stanowią szczególnie obciążającą postać aGvHD. Najczęściej postać ta jest poprzedzona zmianami skórnymi i jelitowymi, rzadko bywa izolowana. Może się pojawiać już po 2 tygodniach od przeszczepienia, niekiedy też występuje później, w okresie do 6 miesięcy. W patogenezie tej postaci przyjmuje się indukującą rolę uszkodzeń śródbłonek przewodów żółciowych. Może chodzić o toksyczność kondycjonowania, obecność cytokin prozapalnych, wirusy i inne czynniki infekcyjne. Sprzyja to prezentacji antygenów z uszkodzonych tkanek zaabsorbowanych na śródbłonekach przewodników, co prowadzi do rekrutacji aloreaktywnych klonów limfocytów dawcy. Charakterystyczne są zmiany histopatologiczne w wątrobie. Występuje uszkodzenie i degeneracja przewodników żółciowych, które wykazują nieregularne kształty i martwicę śródbłonek. Stwierdza się silny naciek limfocytarny. Występuje cholestaza. Mimo podobieństwa do marskości żółciowej stany te można odróżnić. Klinicznie wątrobowa postać GvHD objawia się wysoką aktywnością fosfatazy alkalicznej (może osiągać 10-20-krotność normy), następnie

Most important cellular elements are:

4. T-lymphocytes CD4 and CD8;
5. NK cells present in great numbers in blood and skin;
6. antigen-presenting cells (APC) present in great numbers in skin and mucous membranes.

CLINICAL SYMPTOMS⁽¹⁾

First signs of an acute GvH reaction usually develop at the time of initial symptoms of leukocytic system recovery, most often not before the second post-transplantation week. The usual presenting sign is a blush on face and other parts of the body exposed to direct sunshine. Gastrointestinal disorders also develop early. In the case of an unfavorable evolution, skin lesions exacerbate, ultimately leading to pemphigus-like symptoms in extreme cases. Gastrointestinal lesions may vary in severity, up to emaciating diarrhea similar to those occurring in ulcerative colitis.

Hepatic lesions constitute a particularly burdensome form of aGvHD. Usually they are preceded by skin and gastrointestinal symptoms and are rarely isolated. They may develop already 2 weeks after transplantation, but sometimes even up to 6 months later. In general opinion, the main initiating factor of this form of GvHD is damage to biliary endothelium. Causative factors may include conditioning toxicity, presence of pro-inflammatory cytokines, viruses and other infectious agents. This promotes presentation of antigens from damaged tissues absorbed on ductal endothelial cells, resulting in recruitment of alloreactive clones of donor lymphocytes. Characteristic are histological alterations in the liver, with damage and degeneration of bile ductules, featuring irregular shape and endothelial necrosis. There is a heavy lymphocytic infiltration and cholestasis. In spite of similarities with biliary cirrhosis, both conditions may be differentiated. On clinical grounds, hepatic form of GvHD manifests by elevated activity of alkaline phosphatase (10-20-fold above normal) and hyperbilirubinaemia. Liver enlargement is usually mild. Severe compromise of hepatic function usually accompanies GvHD forms with multiorgan failure. HBV, HCV, CMV and HSV infections may be an important inducing factor. On the other hand, they must

bilirubinemią. Powiększenie wątroby jest na ogół niewielkie. Ciężkie upośledzenie funkcji wątroby pojawia się w postaciach GvHD z wielonarządowym uszkodzeniem. Zakażenia HBV, HCV, CMV i HSV mogą stanowić czynnik indukujący. Z drugiej strony muszą być brane pod uwagę w rozpoznaniu różnicowym i mogą utrudniać diagnostykę. W różnicowaniu trzeba też uwzględnić zespół VOD (*veno-occlusive disease*), pamiętając jednak, że możliwe jest równoczesne występowanie VOD i wątrobowej postaci GvHD. Należy też brać pod uwagę inne uszkodzenia wątroby występujące w związku z immunosupresją i pobieraniem licznych leków. Są to: zapalenia wirusowe wątroby, zapalenia powodowane przez grzyby, bakterie (mikroropnie, *cholangitis*, zakażenia *M. tuberculosis* i *M. avium*), uszkodzenia polekowe (po cyklosporynie, sulfonamidach, lekach przeciwgrzybiczych, mezlocylinie, metotreksacie itp.). Stopnie kliniczne ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi przedstawiono w tabelach 2 i 3^(4,5).

LECZENIE PIERWSZEGO RZUTU^(1,6-8)

Najważniejszym czynnikiem prognostycznym w leczeniu ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi jest odpowiedź na leczenie pierwszego rzutu – prednizolon. Najczęściej używaną substancją jest metyloprednizolon w dawce dobowej 2 mg/kg. Podawanie glikokortykoidu łączy się ze stosowaniem inhibitora kalcineuryny: cyklosporyny A lub takrolimusu. Odsetek całkowitych odpowiedzi wynosi 25-40% u chorych z ostrą chorobą przeszczep przeciwko gospodarzowi w stopniu II-IV. Odsetek uzyskanych odpowiedzi maleje wraz ze stopniem nasilenia objawów GvHD. Jest on również zależny od rodzaju i stopnia

be taken into account in differential diagnosis and may greatly complicated the diagnostic process. Differential diagnosis must also consider veno-occlusive disease (VOD), keeping in mind that coexistence of VOD and hepatic form of GvHD is also possible. To be considered are also other types of liver failure, associated with immune suppression and multidrug pharmacotherapy. These include: viral hepatitis, liver inflammation induced by fungi, bacteria (microabscesses, cholangitis, infections by *M. tuberculosis* and *M. avium*), drug-induced liver damage (after cyclosporine-, sulfonamides-, antimycotics, mezlocillin, methotrexate, etc.).

Clinical stages of acute GvHD are summarized in tables 2 and 3^(4,5).

FIRST-LINE TREATMENT^(1,6-8)

The most important prognostic factor in the treatment of acute GvHD is patient's response to first-line prednisone-based treatment. Most commonly used agent is methylprednisolone at a daily dose of 2 mg/kg. It is usually administered in conjunction with calcineurin inhibitor – cyclosporine A or tacrolimus. Complete response rate in patients presenting with an acute GvHD is estimated at 25-40%. Response rate diminishes directly proportional to increasing severity of GvHD symptoms. It also depends on type and degree of invasion of particular organs. In patients with a favorable response to methylprednisolone treatment up to day 14, current recommendations include gradual reduction of steroid doses after reaching total cumulative dose of 2000 mg/m² and their entire withdrawal over about 3 months. There is no standard way of steroid dose reduction.

Stopień Degree	Skóra Skin	Wątroba Liver	Jelito Bowel
0	Bez zmian Unaltered	Bilirubina <34 µmol/l Bilirubin <34 µmol/l	Brak lub biegunka <500 ml/d Normal stool or diarrhea <500 ml/d
1	Rumień plamisto-grudkowy na <25% powierzchni ciała Maculopapular erythema on less than 25% body surface area	Bilirubina 34-50 µmol/l (do 3 mg%) Bilirubin 34-50 µmol/l (up to 3 mg%)	Biegunka 500-1000 ml/d Diarrhea 500-1000 ml/d
2	Rumień plamisto-grudkowy na 25-50% powierzchni ciała Maculopapular erythema over 25-50% body surface area	Bilirubina 51-102 µmol/l (do 6 mg%) Bilirubin 51-102 µmol/l (up to 6 mg%)	Biegunka 1000-1500 ml/d Diarrhea 1000-1500 ml/d
3	Uogólniony rumień plamisto-grudkowy Generalized maculopapular erythema	Bilirubina 103-255 µmol/l (do 15 mg%) Bilirubin 103-255 µmol/l (up to 15 mg%)	Biegunka >1500 ml/d Diarrhea >1500 ml/d
4	Uogólniony rumień z tworzeniem pęcherzy i złuszczeniem Generalized erythema with blisters and desquamation	Bilirubina >255 µmol/l (>15 mg%) Bilirubin >255 µmol/l (>15 mg%)	Silne bóle brzucha z niedrożnością lub bez Severe abdominal pain with or without ileus

Tabela 2. Nasilenie objawów ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi w skali opartej na nasileniu i rozległości objawów
Table 2. Severity of acute GvHD scored according to severity of and extent of symptoms

zajęcia poszczególnych narządów. U chorych, którzy odpowiedzieli na leczenie metyloprednizolonem do dnia +14, zaleca się redukcję dawki glikokortykoidów do ich całkowitego odstawienia (w ciągu około 3 miesięcy) po osiągnięciu dawki kumulacyjnej wynoszącej 2000 mg/m². Nie istnieje standard sposobu redukcji dawki glikokortykoidu. Zazwyczaj obniża się dawkę metyloprednizolonu o 10% co tydzień.

Brak odpowiedzi na metyloprednizolon w skojarzeniu z inhibitorem kalcyneuryny jest definiowany w następujący sposób:

1. postęp choroby po 3 dniach terapii;
2. brak poprawy po 7 dniach leczenia;
3. niecałkowita odpowiedź po 14 dniach terapii.

U chorych spełniających którekolwiek z powyższych kryteriów należy włączyć leczenie II rzutu/leczenie ratunkowe – jak najszybciej od stwierdzenia oporności na glikokortykoidy (w ciągu 14 dni od ich włączenia), co pozwala na uzyskanie optymalnego efektu terapeutycznego. Odsetek częściowych i całkowitych remisji po zastosowaniu leczenia drugiego rzutu wynosi 35-70%, lecz całkowite przeżycie jest niskie z powodu powikłań infekcyjnych i/lub nawrotu choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. Żadna z przedstawionych terapii nie ma przewagi nad inną. W leczeniu sterydoopornej ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi nadal nie widać znaczącego postępu pomimo zastosowania całej gamy nowych leków; na szczęście wciąż prowadzone są nowe badania⁽⁹⁻¹¹⁾.

LECZENIE DRUGIEGO RZUTU/LECZENIE RATUNKOWE

W tej sytuacji klinicznej można zastosować: kwas mykofenolowy, metotreksat, cyklofosamid, pentostatynę, inhibitory mTOR, przeciwciała przeciwko TNF- α czy IL-2 oraz mono- i poliklonalne przeciwciała skierowane przeciwko limfocytom T. Opcje nefarmakologiczne obejmują użycie zewnątrzustrojowej fototerapii czy alogenicznych mezenchymalnych komórek macierzystych.

SUROWICA ANTYLIMFOCYTARNA/SUROWICA ANTYTYMOCYTARNA (ATG)⁽¹²⁻¹⁴⁾

Zazwyczaj dawki wynoszą:

1. surowica końska: 15-20 mg/kg dziennie przez 5-7 dni;
2. surowica królicza: 1,5 mg/kg dziennie przez 4 dni; leczenie może być powtórzone jednokrotnie po 7-14 dniach.

Remberger i wsp.⁽¹²⁾ zastosowali ATG u 29 chorych w sterydoopornej ostrej chorobie przeszczep przeciwko gospodarzowi. Wszyscy pacjenci mieli zajęta skórę, 26 – przewód pokarmowy, a 25 – wątrobę. Odsetek odpowiedzi był największy w przypadku zajęcia skóry (72%), w przypadkach zajęcia wątroby i jelit wynosił tylko 38%. Wskaźnik przeżycia w dniu +100 po podaniu przeszczepu wyniósł 37%, po 1 roku tylko 12%. Większość chorych zmarła z powodu GvHD, z powodu zakażeń wirusowych lub grzybiczych stanowiących powikłanie stosowanego leczenia immunosupresyjnego.

Graziani i wsp.⁽¹³⁾ zastosowali niskie dawki ATG: 1,25 mg/kg co II dzień (3 lub 5 dawek) w dwóch grupach chorych z ostrą

Stopień Grade	Skóra Skin	Wątroba Liver	Jelito Bowel
0	0	0	0
1	1-2	0	0
2	3 lub -> 3 or ->	1 lub -> 1 or ->	1
3	-	2-3 lub -> 2-3 or ->	2-4
4	4 lub -> 4 or ->	4	-

Tabela 3. Stopień kliniczny ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi

Table 3. Clinical severity of acute GvHD

Usually the dose of methylprednisolone is reduced by 10% every week.

Lack of therapeutic response to methylprednisolone combined with calcineurin inhibitor is defined in the following way:

1. disease progression after 3 days of treatment;
2. lack of clinical improvement after 7 days of treatment;
3. incomplete response after 14 days of treatment.

In patients fulfilling any of these criteria, second-line or salvage treatment should be instituted as quickly as possible after diagnosis of steroid-resistance (at best within 14 days after institution of steroid therapy) in order to obtain an optimal therapeutic effect. Reported rate of partial and complete remissions after second-line treatment ranges from 35 to 70% but overall survival is poor due to infectious complications and/or recurrent GvHD. None of currently available therapies is superior to the other. No significant progress in the management of acute GvHD has been made, in spite of implementation of a whole spectrum of novel agents. Hopefully, new trials are currently underway⁽⁹⁻¹¹⁾.

SECOND-LINE/SALVAGE TREATMENT

This clinical setting warrants the use of such agents as mycophenolate mofetil, methotrexate, cyclophosphamide, pentostatin, mTOR inhibitors, anti-TNF- α and anti-IL-2 antibodies as well as mono- and polyclonal anti-T-lymphocyte antibodies. Non-pharmacological options include the use of extracorporeal photopheresis and infusion of allogeneic mesenchymal stem cells.

ANTILYMPHOCYTE/ANTITHYMOCYTE SERUM⁽¹²⁻¹⁴⁾

Usual doses are:

1. equine serum: 15-20 mg/kg daily over 5-7 days;
2. rabbit serum: 1.5 mg/kg daily over 4 days; treatment may be repeated once after 7-14 days.

chorobą przeszczep przeciwko gospodarzowi. Piętnastu chorych otrzymało lek w leczeniu I rzutu razem z metyloprednizolonem w ciągu 14 dni od rozpoznania aGvHD. Dwunastu pacjentom podano ATG jako leczenie II rzutu (>14 dni od rozpoznania GvHD). Odsetek odpowiedzi w grupie pierwszej wyniósł 80%, a w drugiej 38% ($p=0,03$). Całkowite 3-letnie przeżycie wyniosło odpowiednio 49% i 23%. U chorych z objawami ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi w stopniu III-IV śmiertelność po 1 roku od podania przeszczepu wyniosła: 47% w grupie chorych, którzy otrzymali ATG <14 dnia trwania aGvHD, 87% u pacjentów leczonych ATG po 14. dniu od rozpoznania i 82% w grupie kontrolnej, która nie otrzymywała ATG. Wczesne włączenie ATG w małych dawkach spowodowało wzrost odsetka całkowitych odpowiedzi i spadek śmiertelności związanej z przeszczepieniem w ocenianych grupach chorych.

MacMillan i wsp.⁽¹⁴⁾ udowodnili skuteczność ATG w sterydopornej aGvHD w przypadkach, gdy lek był włączany szybko po stwierdzeniu braku wrażliwości choroby na metyloprednizolon i zwłaszcza w przypadkach zajęcia skóry. ATG stosowano łącznie z glikokortykoidami oraz inhibitorami kalcyneuryny (cyklosporyną A lub takrolimusem).

ALEMTUZUMAB

Jest to przeciwciało monoklonalne anti-CD52. W dawce 10 mg dziennie przez 5-7 dni był z powodzeniem stosowany w leczeniu sterydopornych postaci aGvHD z zajęciem wątroby lub przewodu pokarmowego. Dawka 50 mg pozwala na redukcję ilości powikłań infekcyjnych – infekcji oportunistycznych, które stanowią typowe powikłanie po zastosowaniu alemtuzumabu^(15,16).

DENILEUKIN DIFTITOX – ONTAK (DIPHThERIA TOXIN CONJUGATED IL-2)⁽¹⁷⁾

Jest to rekombinowane białko fuzyjne charakteryzujące się selektywną cytotoksycznością przeciwko limfocytom T (wybiórczo łączy się z receptorami dla IL-2). Stwierdzono znaczącą aktywność tego białka w sterydopornej ostrej chorobie przeszczep przeciwko gospodarzowi:

- badania II fazy – odsetek odpowiedzi = 70%, 40% to całkowite remisje;
- podstawowym działaniem niepożądanym jest wzrost stężenia enzymów wątrobowych;
- konieczne jest stosowanie glikokortykoidów w premedykacji oraz albumin (w razie ich niedoboru), aby zapobiec rozwojowi zespołu przesiąkania kapilarów.

DAKLIZUMAB I ETANERCEPT^(18,19)

Etanercept jest białkiem stanowiącym połączenie między pozakomórkową domeną receptora 2 ludzkiego TNF- α (TNFR2/p75) a domeną Fc ludzkiej IgG₁. TNF- α , wiążąc się ze związanym z błoną komórkową (występuje także w formie wolnej) receptorem p75, wpływa na rozwój zapalenia. Etanercept

Remberger et al.⁽¹²⁾ used ATG in 29 patients with steroid-resistant acute GvHD. All patients presented with skin invasion, 26 – with digestive tract invasion and 25 – with liver invasion. Therapeutic response rate was the best in dermal lesions (72%) and much worse in hepatic and digestive tract lesions (38%). Survival rate as for the 100 post-transplantation day was 37% and one-year survival rate only 12%. Most patients died because of their GvHD due to viral and fungal infections complicating immunosuppressive treatment.

Graziani et al.⁽¹³⁾ used small doses of ATG (1.25 mg/kg) every second day (3 or 5 doses) in two groups of patients with acute GvHD. Fifteen patients received the drug in the setting of first-line methylprednisolone-based treatment within the first 14 days after diagnosis of GvHD. Twelve patients received ATG as second-line treatment more than 14 days after GvHD diagnosis. Response rates in the first and second groups were 80% and 38%, respectively ($p=0.03$). Overall 3-years survival rates were 49% and 23%, respectively. In patients presenting signs of acute GvHD at clinical stages III-IV, one-year post-transplantation mortality was 47% in patients receiving ATG since prior to 14th day of GvHD duration, 87% in those receiving ATG after the 14 post-diagnosis day and 82% in not-ATG-treated controls. Early application of ATG at a small dose resulted in increased complete response rates and reduction of transplantation-related mortality in patients included in this study.

McMillan et al.⁽¹⁴⁾ proved the effectiveness of ATG in steroid-resistant GvHD when the drug was implemented immediately after diagnosing lack of response to methylprednisolone and particularly in cases of predominating cutaneous involvement. ATG was used combined with steroids and calcineurin inhibitors (cyclosporine A or tacrolimus).

ALEMTUZUMAB

Alemtuzumab is a monoclonal anti-CD52 antibody. At a daily dose of 10 mg for 5-7 days it was successfully used in the treatment of steroid-resistant forms of acute GvHD involving the liver or the digestive tract. The dose of 50 mg results in a reduced rate of infectious complications, mainly opportunistic infections, which are a typical complication of alemtuzumab^(15,16).

DENILEUKIN DIFTITOX – ONTAK (DIPHThERIA TOXIN CONJUGATED IL-2)⁽¹⁷⁾

It is a recombinant fusion protein with a selective cytotoxic activity against T-lymphocytes (selectively binding with IL-2 receptors). High activity of this protein has been noticed in steroid-resistant acute GvHD:

- phase II trials: a 70% response rate, thereof 40% of complete remissions;
- most important side effect is elevated level of hepatic enzymes;
- require conditioning with steroids and albumins (in the case of their deficit) in order to prevent capillary leak syndrome.

hamuje więc wiązanie TNF- α do receptora, co sprawia, że staje się on biologicznie nieaktywny. Obecność fragmentu Fc powoduje, że lek ma dłuższy czas półtrwania.

Daclizumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym łączącym się z receptorem alfa (CD25) IL-2, hamującym łączenie pomiędzy IL-2 a aktywowanymi limfocytami T. W badaniu Miano i wsp.⁽¹⁸⁾ okazał się skuteczny w sterydoopornej aGvHD w zwalczaniu objawów skórnych oraz jelitowych (ale tylko o małym lub umiarkowanym nasileniu). Odsetek całkowitych odpowiedzi wyniósł 46%.

Wolff i wsp.⁽¹⁹⁾ zastosowali etanercept z daclizumabem w leczeniu skojarzonym sterydoopornej ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. We wnioskach autorzy stwierdzili znaczący odsetek całkowitych odpowiedzi przy istniejącym, niestety, ryzyku rozwoju powikłań infekcyjnych zagrażających życiu i wysokim ryzyku rozwoju przewlekłej postaci choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi.

VISILIZUMAB (HUMANIZOWANE PRZECIWCIAŁO ANTY-CD3), ORTHOCLONE (MYSIE PRZECIWCIAŁO ANTY-CD3), PRZECIWCIAŁO ANTY-CD147

Brak wpływu na przeżycie w porównaniu z ATG, glikokortykoidami⁽²⁰⁻²²⁾.

PENTOSTATYNA^(7,8,23)

Jest to inhibitor adenozyndeaminazy. Pod wpływem tego enzymu następuje deaminacja adenozyminy i deoksyadenozyminy. Limfocyty są szczególnie wrażliwe na działanie pentostatyny. Pod jej wpływem dochodzi w tych komórkach do akumulacji dATP, co prowadzi do spowolnienia wzrostu limfocytów i powoduje apoptozę. Pentostatyna powoduje spadek odpowiedzi limfocytów T na IL-2, zmniejsza liczbę i upośledza funkcję limfocytów T, cytotoksyczność zależną i niezależną od przeciwciał, zmniejsza liczbę naturalnych kilerów.

W badaniu fazy I⁽²³⁾ odsetek całkowitych remisji w leczeniu sterydoopornej aGvHD wyniósł 63%, 13% stanowiły częściowe remisje. Lek był dobrze tolerowany w dawce 1,5 mg/m² dziennie w dniach 1.-3. (w razie konieczności dawka mogła być powtórzana w dniach 15.-17.). Z działań niepożądanych obserwowano limfopenię (nie było neutropenii) oraz umiarkowanego stopnia małopłytkowość i zaburzenia w testach wątrobowych.

METOTREKSAT

Zastosowany w małych dawkach – 5 mg/m²/dawkę co 7 dni (minimum 4 razy) – okazał się skutecznym lekiem u chorych ze sterydooporną ostrą chorobą przeszczep przeciwko gospodarzowi oraz w przypadkach przewlekłej postaci choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi opornych na glikokortykoidy lub konieczności ich odstawienia z uwagi na rozwój powikłań po ich zastosowaniu. Badanie zostało przeprowadzone u chorych po przeszczepieniu alogenicznych komórek krwiotwórczych z użyciem reżimów przygotowawczych o zredukowanej

DACLIZUMAB AND ETANERCEPT^(18,19)

Etanercept is a protein linking extracellular domain of receptor 2 of human TNF- α (TNFR2/p75) and domain Fc of human IgG₁. TNF- α binds with membrane-anchored p75 receptor (may exist also in a free form) influencing the development of inflammation. Etanercept inhibits binding of TNF- α with receptor, making it biologically inactive. In the presence of Fc segment, the drug has a longer half-life.

Daclizumab is a humanized monoclonal antibody binding with receptor α (CD25) IL-2, inhibiting binding of IL-2 to activated T-lymphocytes. In the study by Miano et al.⁽¹⁸⁾ it proved successful in steroid-resistant GvHD in relieving dermal and intestinal symptoms (mild and moderately severe only). Complete response rate was 46%.

Wolff et al.⁽¹⁹⁾ used etanercept with daclizumab in combination treatment of steroid-resistant acute GvHD. In conclusion, these authors noticed a significant proportion of complete responses, unfortunately associated with a considerable risk of life-threatening infectious complications and a high risk of development of a chronic GvHD.

VISILIZUMAB (HUMANIZED ANTI-CD3 ANTIBODY), ORTHOCLONE (MURINE ANTI-CD3 ANTIBODY), ANTI-CD147 ANTIBODY

No impact on survival as compared with ATG and glucocorticoids⁽²⁰⁻²²⁾.

PENTOSTATIN^(7,8,23)

Pentostatin is an adenosine deaminase inhibitor. It promotes deamination of adenosine and deoxyadenosine. Lymphocytes are particularly sensitive to pentostatin. Under its influence, these cells accumulate dATP, resulting in slower growth and enhanced apoptosis. Pentostatin inhibits response of T-lymphocytes to IL-2, reduces numbers and compromises function of T-lymphocytes, their antibody-dependent and antibody-independent cytotoxic properties and reduced the number of natural killer cells.

In a phase I clinical trial⁽²³⁾, complete and partial remission rates in the treatment of steroid-resistant acute GvHD were 63% and 13%, respectively. The agent was well tolerated at the dose of 1.5 mg/m² in days 1-3 (if needed, the dose could be repeated in days 15-17). Adverse effects included lymphopenia (no neutropenia was noticed) and a moderate thrombocytopenia and abnormal liver tests.

METHOTREXATE

Methotrexate administered in small doses (5 mg/m²/dose QW, at least 4 times) proved effective in patients with steroid-resistant acute GvHD, in chronic forms of the condition resistant to glucocorticoids and those necessitating their withdrawal due to steroid-induced complications. The study recruited patients treated according to reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation protocols⁽²⁴⁾.

sile działania (*reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation*)⁽²⁴⁾.

CYKLOFOSFAMID⁽²⁵⁾

Zastosowano puls cyklofosfamidu w dawce 1 g/m² u 15 chorych ze sterydooporną chorobą przeszczep przeciwko gospodarzowi. Lek okazał się skuteczny w leczeniu zmian skórnych (100% odpowiedzi). W przypadku zajęcia wątroby odsetek odpowiedzi sięgał 70%. Cyklofosfamid okazał się mało skuteczny w zwalczaniu nasilonych objawów związanych z zajęciem przewodu pokarmowego. Profil toksyczności był do zaakceptowania. Nie stwierdzono wzrostu częstości infekcji oportunistycznych, mieszanego chimeryzmu, nawrotów i po-transplantacyjnych chorób limfoproliferacyjnych.

KWAS MYKOFENOLOWY

Wyniki wielu przeprowadzonych badań klinicznych wskazują na wysoką skuteczność kwasu mykofenolowego zarówno w leczeniu pierwszorazowej ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi, jak i w przypadkach oporności na glikokortykoidy. Jest stosowany łącznie z metyloprednizolonem w dawce 15 mg/kg co 12 godzin. Na początku terapii wskazane jest rozpoczęcie leczenia od mniejszych dawek – 250 mg co 12 godzin, w celu minimalizacji ryzyka rozwoju powikłań ze strony przewodu pokarmowego. Z uwagi na fakt, że w biopsji jelita daje podobne zmiany jak choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi, konieczne jest przed jego zastosowaniem pobranie wycinków z odbytnicy w celu ustalenia rozpoznania choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi⁽²⁶⁻²⁹⁾.

ZEWNĄTRZUSTROJOWA FOTOTERAPIA (ECP)^(30,31)

Jest stosowana w leczeniu skórnych chłoniaków T-komórkowych, wybranych chorób autoimmunizacyjnych, odrzucaniu przeszczepów narządowych. Okazała się skuteczna w leczeniu przewlekłej postaci choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. Była również stosowana w sterydoopornej postaci ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. Odsetek całkowitych odpowiedzi wynosił 82% w przypadku zmian skórnych oraz 61% w przypadkach zajęcia wątroby czy przewodu pokarmowego.

- Zalecane są 2-3 zabiegi w tygodniu (mediana czasu do pojawienia się odpowiedzi wynosi 1,2 miesiąca).
- Wczesne rozpoczęcie zabiegów ECP po rozpoznaniu sterydooporności poprawia odsetek całkowitych odpowiedzi zwłaszcza w przypadkach zajęcia jelit i aGvHD w stopniu IV.
- Pozwala na redukcję dawki glikokortykoidów oraz redukcję ilości i jakości powikłań związanych z ich stosowaniem.
- Odpowiedzi są długotrwałe.
- Uzyskanie odpowiedzi znacząco poprawia przeżycie i redukuje śmiertelność związaną z transplantacją.
- ECP nie upośledza efektu przeszczep przeciwko białaczce.
- ECP nie zwiększa ryzyka rozwoju infekcji oportunistycznych.

CYCLOPHOSPHAMIDE⁽²⁵⁾

Cyclophosphamide pulses of 1 g/m² in 15 patients with steroid-resistant GvHD were used. The drug proved effective in relieving dermal manifestations (100% complete response rate). In cases of liver involvement, there was a 70% response rate. Cyclophosphamide proved ineffective in the treatment of severe gastrointestinal symptoms. Overall, toxicity profile was acceptable. No increased incidence of opportunistic infections, mixed chimerism, recurrences and post-transplantation lymphoproliferative diseases has been noticed.

MYCOPHENOLATE MOFETIL

Results of hitherto performed clinical trials confirmed high effectiveness of this agent, both in first-line treatment of acute GvHD and in steroid-resistant cases. It is administered combined with methylprednisolone at a dose of 15 mg/kg every 12 hours. Treatment is initiated using reduced doses (250 mg every 12 hours) in order to minimize the risk of gastrointestinal complications. In patients thus treated, bowel biopsy may reveal lesions similar to those observed in GvHD, therefore rectal mucosal specimens should be obtained prior to administration of mycophenolate in order to reliably diagnose GvHD⁽²⁶⁻²⁹⁾.

EXTRACORPOREAL PHOTOPHERESIS (ECP)^(30,31)

ECP is currently used in the treatment of skin T-cell lymphomas, selected autoimmune diseases, rejection of organ transplants. It proved effective in the treatment of chronic GvHD and in acute steroid-resistant form of this condition. Complete response rate was 82% in dermal lesions and 61% in cases of hepatic or gastrointestinal invasion.

- Recommended are 2-3 procedures per week (median time to clinical response being 1.2 months).
- Starting ECP procedures immediately after diagnosis of steroid-resistance improves overall response rate, particularly in cases with intestinal involvement and stage IV acute GvHD.
- ECP enables reduction of glucocorticoid dose, resulting in reduced rate and severity of complications associated therewith.
- Therapeutic response in long-lasting.
- Therapeutic response significantly improves survival and reduces transplantation-associated mortality.
- ECP does not affect the transplant-versus-leukemia effect.
- ECP does not increase the risk of opportunistic infections.

MESENCHYMAL STEM CELLS^(32,33)

Bone marrow is populated not only by hematopoietic cells, but also by cells not directly related to hematopoiesis, known as mesenchymal stem cells (MSC). They express surface antigens CD44, CD105, CD166, CD73, CD90, CD117 and STRO-1, while there is no expression of CD14, CD34 or CD45 antigens,

MEZENCHYMALNE KOMÓRKI MACIERZYSTE^(32,33)

Szpiczek kostny jest zasiedlony nie tylko przez komórki krwiotwórcze, lecz także przez populację komórek niezwiązanych bezpośrednio z hematopoezą, zwaną mezenchymalnymi komórkami macierzystymi (*mesenchymal stem cell*, MSC). Wykazują one ekspresję antygenów powierzchniowych CD44, CD105, CD166, CD73, CD90, CD117 i STRO-1, nie wykazują natomiast ekspresji CD14, CD34, CD45, przez co można je odróżnić od komórek hematopoetycznych. Produkują i wydzielają szereg cytokin wpływających na podtrzymanie hematopojezy, hamują aktywację aloreaktywnych limfocytów T, natomiast nie mają właściwości komórek prezentujących antygen. Biorą też udział w tworzeniu mikrośrodowiska szpiku wytwarzającego sygnały regulacyjne dla MSC, dla prekursorów hematopojezy i dla innych niemezenchymalnych komórek zrębu szpiku kostnego. Posiadają zdolność różnicowania się w kierunku linii: adipocytów, fibroblastów, chondrocytów, osteoblastów, tenocytów, miocytów i kardiomiocytów. Te ich właściwości powodują, że podejmowane są obiecujące próby ich zastosowania *in vivo* w celu przyspieszenia rekonstrukcji hematopojezy u pacjentów poddanych mieloablacyjnej chemioterapii przeciwnowotworowej oraz zmniejszenia nasilenia reakcji przeszczep przeciwko gospodarzowi po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych. Niestety, stanowią typową broń obosieczną. Ich podanie zmniejsza ryzyko rozwoju bądź jest w stanie zlikwidować objawy choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi, ale jednocześnie zwiększa ryzyko nawrotu choroby nowotworowej będącej powodem wykonania przeszczepienia alogenicznego komórek krwiotwórczych.

LIMFOCYTY REGULATORY CD4+/CD25++/FOXP3+^(2,7,34-36)

Do tej pory poznano kilka mechanizmów regulacji odpowiedzi immunologicznej przez limfocyty regulatorowe:

- Po pierwsze, jest to aktywna inhibicja efektorowych limfocytów T poprzez oddziaływanie komórka – komórka. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że za hamowanie efektorowych limfocytów T odpowiedzialne jest wydzielanie IL-10 i TGF- β . Największą rolę odgrywa TGF- β , związany z błoną komórkową limfocytów Treg.
- Niepobudzone komórki Treg na swej powierzchni wykazują wysoką ekspresję receptora łańcucha α cytokiny IL-2 (CD25), dla łańcucha β IL-2 (CD122) oraz innych cząsteczek, takich jak HLA-DR, CD45RO, wewnątrzkomórkowy receptor CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*) oraz CD134 (OX40). Jedną z niewielu uchwytnych morfologicznych zmian zachodzących podczas aktywacji limfocytów CD4+CD25+ poprzez receptor TCR jest wzrost ekspresji receptora CTLA-4, który ulega przemieszczeniu z cytoplazmy na powierzchnię komórki. Ligandem białka CTLA-4 znajdującego się na powierzchni aktywowanego limfocyta Treg jest receptor B7 na komórkach docelowych. Wynikiem połączenia się białka CTLA-4 z receptorem B7 jest spadek

thereby differing from hematopoietic cells. They produce and secrete several cytokines maintaining hematopoiesis and inhibit activation of alloreactive T-lymphocytes, while being devoid of properties of antigen-presenting cells. They also play a role in creation of bone marrow microenvironment, producing regulatory signals for MSC, hematopoiesis precursors and other non-mesenchymal bone marrow stromal cells. They are able to differentiate to adipocytes, fibroblasts, chondrocytes, osteoblasts, tenocytes, myocytes and cardiomyocytes. In view of these properties, attempts are underway to use these cell *in vivo* to accelerate restoration of hematopoiesis in patients subjected to myeloablative antitumor chemotherapy and to reduce the severity of GvH reaction after hematopoietic stem cell transplantation. Unfortunately, they are a typical double-edged weapon. Their use reduces the risk of development or relieves symptoms of GvHD, but at the same time increases the risk of recurrence of malignancy – the prime cause of transplantation of allogeneic hematopoietic cells.

REGULATORY LYMPHOCYTES DC4+, CD25++, FOXP3+^(2,7,34-36)

To date, several mechanisms of controlling immune response by regulatory lymphocytes have been elucidated:

- **Active inhibition of effector T-lymphocytes by cell-cell interactions;** *in vitro* studies revealed that inhibition of effector T-lymphocytes is mediated by secretion of IL-10 and TGF- β . The latter, bound with cell membrane of Treg lymphocytes is most important.
- **Inactive Treg cells feature on their surface intense expression of chain- α and chain- β of cytokine IL-2 (CD25 and CD122, respectively) and other molecules, e.g. HLA-DR, CD45RO, intracellular CTLA-4 receptor (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4) and CD134 (OX40).** One of the few discernible morphologic alterations taking place during activation of CD4+ and CD25+ lymphocytes by TCR receptor is enhanced expression of the CTLA-4 receptor which is transferred from cytoplasm to cell surface. Ligand of CTLA-4 protein on the surface of activated Treg lymphocyte is the B7 receptor on target cell. A result of binding CTLA-4 protein with B7 receptor is reduced production of IL-2 by lymphocytes directly influenced by Treg cells. Reduced secretion of IL-2 leads to arrested proliferation of other classes of lymphocytes.
- **The next factor with an alleged suppressor influence on regulatory lymphocytes CD4+, CD25+, is the GITR receptor (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor).** In *in vitro* studies, application of monoclonal antibodies blocking the GITR receptor resulted in diminished inhibitory function of Treg cells.
- **Other candidates for receptors responsible for suppression of regulatory lymphocytes are PD-1 and Notch molecules.** To date, structure and role of these receptors in direct cell-cell interactions have not been unequivocally determined. What is known, is that transgenic mice lacking PD-1 receptor develop autoimmune glomerulonephritis, arthritis and autoimmune dilatation cardiomyopathy.

wytwarzania IL-2 przez limfocyty bezpośrednio poddane działaniu Treg. W następstwie obniżenia uwalniania IL-2 następuje spadek proliferacji pozostałych limfocytów.

- Kolejnym czynnikiem, któremu przypisuje się znaczenie supresyjne regulatorowych limfocytów CD4+CD25+, jest receptor GITR (*glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor*). W badaniach *in vitro* po zastosowaniu przeciwciał monoklonalnych blokujących receptor GITR nastąpiło osłabienie właściwości inhibicyjnych komórek Treg.
- Innymi kandydatami receptorów odpowiedzialnych za supresję limfocytów efektorowych mogą być cząsteczki PD-1 oraz Notch. W dotychczasowych badaniach nie udało się jednoznacznie określić struktury i znaczenia tych receptorów w bezpośrednich interakcjach komórkowych. Stwierdzono jedynie, że u myszy transgenicznym z brakiem receptora PD-1 rozwijają się autoimmunizacyjne zapalenie kłębuszków nerkowych, zapalenie stawów i autoimmunizacyjna kardiomiopatia rozstrzeniowa.

DWUSTOPNIOWA TEORIA DZIAŁANIA Treg

Nie do końca wiemy, w jaki sposób tak mało liczna populacja komórek jest w stanie nadzorować pozostałe komórki układu immunologicznego. Pewnym wyjaśnieniem może być teoria dwustopniowego działania Treg, zwana tolerancją zaraźliwą (*infectious tolerance*). Teoria ta dzieli mechanizm na dwa sekwencyjnie występujące po sobie zdarzenia:

- W pierwszym etapie komórki Treg CD4+CD25+ w kontakcie bezpośrednim z limfocytami T CD4+CD25- indukują ich anergię i uwalnianie przez nie IL-10 i TGF- β . W ten sposób powstają anergiczne limfocyty Tsup, zdolne do wydzielania IL-10 i TGF- β .
- W drugim etapie powstałe uprzednio Tsup działają hamująco na kolejne limfocyty CD4+CD25-.

Ostatnio podejmuje się próby kliniczne profilaktycznego i leczniczego stosowania limfocytów regulatorowych w zapobieganiu i leczeniu choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi^(2,7).

PIŚMIENNICTWO: BIBLIOGRAPHY:

1. Devergie A.: Graft vs. host disease. W: Apperley J.F., Carreras E., Gluckman E. i wsp. (red.): Haemopoietic Stem Cell Transplantation. Forum Service Editore, Genoa 2008: 219-234.
2. Paczesny S., Hanauer D., Sun Y., Reddy P.: New perspectives on the biology of acute GvHD. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45: 1-11.
3. Billingham R.E.: The biology of graft- versus- host reactions. *Harvey Lect* 1966; 62: 21-78.
4. Glucksberg H., Storb R., Fefer A. i wsp.: Clinical manifestations of graft versus host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors. *Transplantation* 1974; 18: 295-304.
5. Przepiorka D., Weisdorf D., Martin P. i wsp.: Consensus conference on acute GvHD grading. *Bone Marrow Transplant.* 1995; 15: 825-828.

“DOUBLE-HIT” THEORY OF Treg LYMPHOCYTES’ MECHANISM OF ACTION

We do not know exactly how such a small population of cells is able to control all other cells of the immune system. An explanation thereof might be the “double hit” theory of Treg function, known also as the “infectious tolerance” concept. Accordingly, Treg mechanism of action is composed of two sequential events:

- In the first place, Treg cells CD4+CD25+ contact directly with T-lymphocytes CD4+CD25- inducing their anergy and inhibit secretion of IL-10 and TGF- β . In this way, anergic lymphocytes Tsup are created, able to secrete IL-10 and TGF- β .
- In the second place, existing Tsup lymphocytes inhibit the next CD+CD25- lymphocytes.

Recently launched clinical trials focus on preventive and curative use of regulatory lymphocytes in the prevention and treatment of GvHD^(2,7).

6. Akpek G.: Advances in the pathogenesis and treatment of acute graft-versus-host disease. *Abstr. Hematol. Oncol.* 2004; 7: 20-30.
7. Von Bonin M., Wermke M., Platzbecker U. i wsp.: Therapy of acute graft-versus-host disease. *Cell Ther. Transplant.* 2010; 2: doi:10.3205/ctt-2010-en-000057.01.
8. Vogelsang G.B.: Advances in the treatment of graft-versus-host disease. *Leukemia* 2000; 4: 509- 510.
9. Kim S.S.: Treatment options in steroid-refractory acute graft-versus-host disease following hematopoietic stem cell transplantation. *Ann. Pharmacother.* 2007; 41: 1436-1444.
10. Bacigalupo A.: Management of acute graft-versus-host disease. *Br. J. Haematol.* 2007; 137: 87-98.
11. Deeg H.J.: How I treat refractory acute GVHD. *Blood* 2007; 109: 4119-4126.
12. Remberger M., Aschan J., Barkholt i wsp.: Treatment of severe acute graft-versus-host disease with anti-thymocyte globulin. *Clin. Transplantation* 200; 15: 147-153.
13. Graziani F., van Lint M.T., Dominietto A. i wsp.: Treatment of acute graft-versus-host disease with low-dose, alternate-day antithymocyte globulin. *Haematologica* 2002; 87: 973-978.
14. MacMillan M.L., Weisdorf D.J., Davies S.M. i wsp.: Early antithymocyte globulin therapy improves survival in patients with steroid-resistant acute graft-versus-host disease. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2002; 8: 40-46.
15. Carella A.M., Beltrami G., Scalzulli P.R. i wsp.: Alemtuzumab can successfully treat steroid-refractory acute graft-versus-host disease (aGvHD). *Bone Marrow Transplant.* 2004; 33: 131-132.
16. Wandroo F., Augusston B., Cook M. i wsp.: Successful use of Campath-1H in the treatment of steroid refractory liver GvHD. *Bone Marrow Transplant* 2004; 34: 285-287.
17. Antin J.H., Yolin Raley D.: Graft-versus-host disease prophylaxis and acute. W: *Manual of Stem Cell and Bone Marrow Transplantation.* Cambridge University Press, New York 2009: 53-75.
18. Miano M., Cuzzubbo D., Terranova P. i wsp.: Daclizumab as useful treatment in refractory acute GVHD: a paediatric experience. *Bone Marrow Transplant.* 2009; 43: 423-427.
19. Wolff D., Roessler V.V., Steiner B. i wsp.: Treatment of steroid-resistant acute graft-versus-host disease with daclizumab and etanercept. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 35: 1003-1010.

20. Carpenter P.A., Lowder J., Johnston L. i wsp.: A phase II multicenter study of visilizumab, humanized anti-CD3 antibody, to treat steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2005; 1: 465-471.
21. Knob S., Hebart H., Gscheidle H. i wsp.: OKT3 muromonab as second-line and subsequent treatment in recipients of stem cell allografts with steroid-resistant acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 36: 831-837.
22. MacMillan M.L., Couriel D., Weisdorf D.J. i wsp.: A phase 2/3 multicenter randomized clinical trial of ABX-CBL versus ATG as secondary therapy for steroid-resistant acute graft-versus-host disease. *Blood* 2007; 109: 2657-2662.
23. Bolanos-Meade J., Jacobsohn D.A., Margolis J. i wsp.: Pentostatin in steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 2661-2668.
24. De Lavallade H., Mohty M., Faucher C. i wsp.: Low-dose methotrexate as salvage therapy for refractory graft-versus-host disease after reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 2006; 91: 1438-1440.
25. Mayer J., Krejci M., Doubek M. i wsp.: Pulse cyclophosphamide for corticosteroid-refractory graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 35: 699-705.
26. Alousi A.M., Weisdorf D.J., Logan B.R. i wsp.: Etanercept, mycophenolate, denileukin, or pentostatin plus corticosteroids for acute graft-versus-host disease: a randomized phase 2 trial from the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network. *Blood* 2009; 114: 511-517.
27. Furlong T., Martin P., Flowers M. i wsp.: Therapy with mycophenolate mofetil for refractory acute and chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* 2009; 44: 739-748.
28. Chen H., Liu K.Y., Liu D.H. i wsp.: Mycophenolate mofetil in treatment of graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation: analysis of 44 cases. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2008; 88: 2127-2130.
29. Koreth J., Antin J.H.: Current and future approaches for control of graft-versus-host disease. *Expert Rev. Hematol.* 2008; 23: 111.
30. Greinix H.T., Volc-Platzer B., Rabitsch W. i wsp.: Successful use of extracorporeal photochemotherapy in the treatment of severe acute and chronic graft-versus-host disease. *Blood* 1998; 92: 3098-3104.
31. Greinix H.T.: ECP in acute and chronic GvHD. W: Heshmati F. (red.): *Extracorporeal Photochemotherapy & Transfusion Medicine.* Help Medical, Paris 2008: 100-107.
32. Vianello F., Dazzi F.: Mesenchymal stem cells for graft-versus-host disease: a double edged sword? *Leukemia* 2008; 22: 463-465.
33. Urbaniak-Kujda D., Wołowicz D., Tomaszewska-Toporska B. i wsp.: Mezenchymalne komórki macierzyste: ich biologia i perspektywy zastosowań klinicznych. *Acta Haematologica Polonica* 2005; 36: 161-166.
34. Cohen J.L., Trenado A., Vasey D. i wsp.: CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells: new therapeutics for graft-versus-host disease. *J. Exp. Med.* 2002; 196: 401-406.
35. Lewkowicz P., Lewkowicz N., Tchórzewski H.: CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells: their physiology and role in modulating immune response. *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)* 2005; 59: 362-370.
36. Zheng S.G., Wang J.H., Gray J.D. i wsp.: Natural and induced CD4⁺CD25⁺ cells educate CD4⁺CD25⁻ cells to develop suppressive activity: the role of IL-2, TGF- β , and IL-10. *J. Immunol.* 2004; 172: 5213-5221.

Informacja dla Autorów!

Chcąc zapewnić naszemu czasopismu „Current Gynecologic Oncology” wyższą indeksację MNiSW i Index Copernicus, zwracamy się do Państwa o dopełnienie poniższych warunków podczas przygotowywania pracy do publikacji:

- Publikację należy opatrzyć **afiliacją** – z podaną nazwą ośrodka/ów, adresem do korespondencji, numerem telefonu, faksu, adresem e-mail.
- Praca powinna być poprzedzona **streszczeniem** zawierającym **200-250 słów**. Streszczeniu pracy oryginalnej należy nadać budowę strukturalną: Cel pracy, Materiał i metody, Wyniki, Wnioski.
- Liczba **słów kluczowych** nie może być mniejsza niż 5. Słowa kluczowe nie powinny być powtórzeniem tytułu. Najlepiej stosować słowa kluczowe z katalogu MeSH.
- **Praca oryginalna** winna zawierać elementy: Wstęp, Cel pracy, Materiał i metody, Wyniki, Omówienie, Wnioski, Piśmiennictwo.
- **Piśmiennictwo** należy ułożyć w **kolejności cytowania**.

Information for Contributors!

In order to ensure a higher MNiSW and Index Copernicus score for our journal “Current Gynecologic Oncology”, we ask you to comply with the following conditions when preparing your manuscripts for publication:

- Authors’ **affiliation** should be clearly stated, providing the name of centre, address for correspondence, phone and fax number and e-mail address.
- Paper should be preceded by an **abstract** counting **200-250 words**. Abstract of original paper should be structured, i.e. should be subdivided into the following sections: Aim of paper, Material and methods, Results and Conclusions.
- The number of **key words** should not be less than 5. Key words should not be a repetition of the title. At best, use key words from the MeSH catalogue.
- **Original paper** should include the following sections: Introduction, Aim of paper, Material and methods, Results, Discussion, Conclusions, References.
- **References** should be listed in the **order of appearance**.