

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

DIPLOMSKO DELO

AKUTNA KOŽNA BOLEZEN PRI PEDIATRIČNIH BOLNIKI PO  
ALOGENSKI PRESADITVI KRVOTVORNIH MATIČNIH CELIC  
ACUTE SKIN DISEASE IN PEDIATRIC PATIENTS FOLLOWING  
ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

KATARINA HRVATIN

Univerzitetni študijski program Kozmetologija

Ljubljana, 2017

Diplomsko nalogo sem opravila na Fakulteti za farmacijo, Katedri za klinično biokemijo, pod mentorstvom izr. prof. dr. Matjaža Jerasa, mag.farm.

## ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju izr. prof. dr. Matjažu Jerasu in somentorju, izr. prof. dr. Janezu Jazbecu za strokovno pomoč in vodstvo pri izdelavi diplomskega dela.

## IZJAVA

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelala pod vodstvom mentorja izr. prof. dr. Matjaža Jerasa in somentorja, izr. prof. dr. Janeza Jazbeca.

Katarina Hrvatin

Predsednik diplomske komisije: prof. dr. Aleš Obreza

Mentor: izr. prof. dr. Matjaž Jeras

Somentor: izr. prof. dr. Janez Jazbec

Članica diplomske komisije: doc. dr. Pegi Ahlin Grabnar

# VSEBINA

VSEBINA.....	iii
KAZALO SLIK .....	iv
KAZALO TABEL .....	iv
POVZETEK .....	v
ABSTRACT .....	vii
SEZNAM OKRAJŠAV .....	ix
1. UVOD.....	1
1.1. OSNOVNE VRSTE KRVNIH CELIC IN KRVNA PLAZMA.....	1
1.1.1. Rdeče krvne celice ali eritrociti .....	1
1.1.2. Bele krvničke ali levkociti .....	1
1.1.3. Trombociti ali krvne ploščice.....	2
1.1.4. Krvna plazma .....	2
1.2. MATIČNE CELICE.....	3
1.3. KRVOTVORNE MATIČNE CELICE IN NJIHOVA PRESADITEV .....	3
1.3.1. Viri KMC za presaditev .....	4
1.3.2. Alogenska in avtologna presaditev KMC.....	5
1.3.3. Tkivna skladnost .....	5
1.3.4. Zapleti po alogenski presaditvi KMC .....	6
2. NAMEN DELA.....	9
3. MATERIALI IN METODE .....	10
4. REZULTATI IN RAZPRAVA.....	11
4.1. Patološke kožne spremembe pri aGvHD in njihovo zdravljenje .....	12
4.2. Patološke kožne spremembe pri cGvHD in njihovo zdravljenje.....	15
4.3. Kozmetološki vidik nege kože ob uporabi kortikosteroidov .....	17
4.4. Nega bolnikov po alogenski presaditvi KMC .....	18
4.5. Pojavnost in vrste okužb pri bolniku po alogenski presaditvi KMC ter njihovo zdravljenje	19
4.6. Ostali zgodnji in pozni zapleti po alogenski presaditvi KMC .....	21
5. SKLEP .....	23
6. LITERATURA.....	25
6.1. VIRI SLIK:.....	25

## KAZALO SLIK

Slika 1: Shematski prikaz makule (1). .....	12
Slika 2: Shematski prikaz papule (2).....	12
Slika 3: Makulopapulozni izpuščaji pri otroku pred terapijo (3, osebni arhiv hematološke klinike). .....	13
Slika 4: Koža otroka z aGvHD, po uspešni terapiji s kortikosteroidi; povzeto po (osebni arhiv hematološke klinike Ljubljana).....	15
Slika 5: Primer poikiloderme, z značilnimi hipopigmentiranimi (razbarvana območja) in hiperpigmentiranimi (rjave lise) predeli kože, ki so razširjeni po obrazu in vratu, od koder se širijo na prsni koš (4).....	16
Slika 6: Primer lišaja lichen planus (5). .....	17
Slika 7: Primer kožnih lezij pri okužbi s herpes simpleks virusom (HSV) (6). .....	20
Slika 8: Primer kožnih lezij pri okužbi s citomegalovirusom (CMV) (7).....	20

## KAZALO TABEL

Tabela 1: Stopnje akutne oblike GVHD in prizadetost posameznih organov, glede na resnost njenega poteka; povzeto po (1). .....	7
Tabela 2: Oblike cGvHD in prizadetost posameznih organov, glede na obsežnost njenega poteka; povzeto po (2). .....	8

## POVZETEK

Krvotvorne matične celice (KMC) so izredno pomembne, saj skrbijo, da je v krvi vedno zadostna količina zrelih diferenciranih krvnih celic, ki so ključne za vzdrževanje osnovnih življenjskih procesov. V diplomski nalogi smo se osredotočili na alogenske presaditve KMC in na neželene pojave, ki jih izkusijo prejemniki tovrstnih terapevtskih posegov.

Alogensko presaditev KMC, pri kateri bolnik prejme celice sorodnega ali nesorodnega tkivno skladnega darovalca uporabljamo predvsem za zdravljenje krvnih rakavih bolezni (različne oblike levkemij) in prirojenih imunskih pomanjkljivosti. Sicer pa poznamo tudi avtologno presaditev KMC, katerih vir je bolnik sam. Ker gre v primeru uporabe alogenskih KMC za prejemniku tuj biološki material, se lahko po presaditvi pojavijo različni zapleti, ki so posledica imunskih reakcij darovalčevih krvnih celic na tkivo in celice transplantiranca. Verjetnost za njihov pojav in posledične neželene reakcije je v največji meri odvisna od tkivne skladnosti oz. ujemanja v sicer izjemno raznolikih antigenih poglobitnega kompleksa tkivne skladnosti (molekule HLA; ang. Human Leukocyte Antigens) med bolnikom in darovalcem. Ker lahko za posameznega bolnika najdemo tkivno skladnega sorodnega darovalca v okviru najožje družine, kjer se iskanje tudi začne, le v 25 - 30 %, moramo za vse ostale iskati primerne donorje med nesorodniki, pri čemer nam je na voljo svetovni register prostovoljnih nesorodnih darovalcev BMDW (ang. Bone Marrow Donors Worldwide). V večini primerov je med nesorodnimi darovalci izredno težko najti primernega darovalca za posameznega bolnika, zato je nujno potrebno, da je v nacionalne registre, ki predstavljajo posamezne populacije, vključenih čim več prostovoljcev. Sicer pa lahko KMC pridobimo iz treh različnih virov, in sicer iz kostnega mozga, periferne in popkovnične krvi.

Pred alogensko presaditvijo moramo bolnika najprej s posebnimi citotoksičnimi postopki, ki jim rečemo kondicioniranje, pripraviti na poseg. Vrsta izbranega postopka kondicioniranja pa je odvisna od vrste bolezni in trenutnega zdravstvenega stanja bolnika.

V okviru diplomske naloge smo se posvetili preučevanju tako zgodnjih kot poznih zapletov, ki se pojavijo po alogenskih presaditvah KMC pediatričnim bolnikom. Najbolj nas je zanimala bolezen presadka zoper gostitelja (GvHD; ang. Graft Versus Host Disease), ki je eden od najpogostejših neželenih post-transplantacijskih zapletov. Poznamo

akutno (aGvHD) in kronično (cGvHD) obliko tega patološkega stanja, ki lahko prizadene več organov, in sicer kožo, mišice, pljuča, jetra in prebavila. Koža je prizadeta najpogosteje, pri čemer se pri akutni obliki pojavljajo različni makulopapulozni izpuščaji, pri kronični pa eritemi, hiper- in hipopigmentacije. Kožne spremembe zdravijo s kortikosteroidi, v kombinaciji z drugimi imunosupresivi (npr. ciklosporin A), lahko pa tudi z ultravijoličnim (UVA) sevanjem. Za prizadete bolnike pa je prav tako pomembno, da uporabljajo ustrezne negovalne kozmetične izdelke. Prav zaradi dejstva, da so kožne reakcije in drugi neželeni pojavi, ki se lahko pojavljajo po alogenskih presaditvah KMC ter njihovo zdravljenje in specifična nega bolnikov slabo poznani širši populaciji, smo se odločili, da to področje podrobneje preučimo in izsledke pregledno predstavimo.

**Ključne besede:** krvotvorne matične celice, alogenska presaditev, tkivna skladnost, bolezen presadka zoper gostitelja, kožne manifestacije.

## **ABSTRACT**

Hematopoietic stem cells (HSCs) are extremely important because they are at all times ensuring sufficient amounts of mature differentiated blood cells, essential for the maintenance of basic life processes,. In our graduation thesis we have focused on allogeneic HSC transplantation and adverse effects experienced by recipients of such grafts.

Allogeneic HSC transplantation, where a patient receives cells of either related or unrelated tissue-compatible donor, is primarily used to treat blood cancers (various types of leukemias) and congenital immune deficiencies. Also autologous HSC transplantation exists where the source of cells which is the patient himself. Due to the fact that in case of allogeneic transplantation, the transplanted HSCs represent a viable foreign biological material for the recipient, various complications may occur following their application. These are a result of immune responses of donor's blood cells to allogeneic tissues and cells of the recipient. The likelihood of their occurrence and the resulting adverse reactions to the greatest extent depend on the degree of histocompatibility or matching in extremely polymorphic HLA (Human Leukocyte Antigens) molecules, the members of the major histocompatibility complex (MHC), between donor and recipient of the graft. Because the odds for finding an HLA compatible donor within patient's family members, where the search always starts, are about 25 - 30%, we need to consider unrelated volunteer donors for the rest of patients (70 – 75%). We can find such donors within the Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW) registry. In most cases, finding a proper histocompatible unrelated donor for a given patient can be extremely difficult, therefore it is essential that as many volunteers as possible are included in national registries thereby representing individual populations. Hematopoietic stem cells can be obtained from three different sources, i.e. bone marrow, peripheral and umbilical cord blood.

Prior to allogeneic transplantation, the patients must be treated with special cytotoxic procedures that are called conditioning. The type of selected conditioning procedure depends on the type of patient's disease and his/her current state of health.

The goal of our work was to study both early and late complications that occur following allogeneic HSC transplantation in pediatric patients. We were most interested in graft versus host disease (GvHD), which is the most common unwanted post-transplant complication. Acute (aGvHD) and chronic (cGvHD) forms of this pathological condition exist that can affect several organs, namely skin, muscles, lungs, liver and gastrointestinal tract. The skin is most often affected. Different maculopapular rashes occur as a consequence of aGvHD, while chronic erythema, hyper- and hypo-pigmentation can be present in case of cGvHD. These pathological skin changes are treated with corticosteroids in combination with other immunosuppressants (e.g., cyclosporine A) or ultraviolet (UVA) radiation. It is also important for affected patients to use appropriate skin nourishing cosmetic products. Due to the fact that the skin and other reactions that can occur following allogeneic HSC transplantation, as well as their treatment and specific patient care are poorly known to the wider population, we decided to explore this area in more detail and to present our results in a condensed way.

**Key words:** haematopoietic stem cells, allogeneic transplantation, histocompatibility, graft versus host disease, skin manifestations.



## SEZNAM OKRAJŠAV

aGvHD → akutna bolezen presadka zoper gostitelja (*ang. Acute graft versus host disease*)

cGvHD → kronična bolezen presadka zoper gostitelja (*ang. Chronic graft versus host disease*)

BCR → B-celični antigenski receptor

CD → molekula, ki označuje celično pripadnost (*ang. Cluster of Differentiation*)

CD25 → alfa veriga visokoafinitetnega receptorja za interleukin-2

DC → dendritične celice

FDA → agencija za zdravila in hrano v ZDA (*ang. Food and Drug Administration*)

G-CSF → granulocitne kolonije spodbujajoči dejavnik (*ang. Granulocyte Colonies Stimulating Factor*)

GvL → delovanje presadka zoper levkemične celice (*ang. Graft Versus Leukemia*)

HLA → človeški levkocitni antigeni (*ang. Human Leukocyte Antigens*)

KMC → krvotvorne matične celice

MC → matične celice

MHC → poglavitni kompleks tkivne skladnosti (*ang. Major Histocompatibility Complex*)

NK → naravne celice ubijalke (*ang. Natural Killer cells*)

SCID → resna kombinirana imunska pomanjkljivost (*ang. Severe Combined Immunodeficiency*)

TCR → T-celični antigenski receptor

Th1 → celice T pomagalke tipa 1 (*ang. Helper T cells type 1*)

Th2 → celice T pomagalke tipa 2 (*ang. Helper T cells type 2*)

UKC → Univerzitetni klinični center

# 1. UVOD

Kri, tekoče tkivo, v katerem so v specifični medceličnini, krvni plazmi, suspendirane različne vrste specializiranih krvnih celic (9). Vse krvne celice nastajajo in dozorevajo v krvotvornem ali hemopoetičnem tkivu, to je rdeči kostni mozeg in limfatično tkivo. Od rojstva pa nekje do četrtega leta starosti je rdeči kostni mozeg v vseh kosteh, kasneje pa ga začne postopno nadomeščati rumeni kostni mozeg. Pri odraslih je rdeči kostni mozeg, kjer se nahajajo KMC, le še v vretencih, rebrih, lobanji, ploščatih kosteh medenice ter proksimalnih epifizah stegenic in nadlahtnic. Nastajanje različnih krvnih celic iz KMC in njihovo dozorevanje sta natančno uravnavana procesa, ki tekom življenja omogočata stalno nadomeščanje ostarelih oz. odsluženih krvnih celic v vseh starostnih obdobjih ter s tem vzdrževanje homeostaze, prenosa kisika, hranil in normalno delovanje imunskega sistema. (10).

## 1.1. OSNOVNE VRSTE KRVNIH CELIC IN KRVNA PLAZMA

### 1.1.1. Rdeče krvne celice ali eritrociti

Vsebujejo hemoglobin in zato oskrbujejo vse telesne celice s kisikom in prenašajo s presnovo nastali CO<sub>2</sub> do pljuč (8,9).

### 1.1.2. Bele krvničke ali levkociti

Mednje sodijo granulociti, monociti/makrofagi, dendritične celice, naravne celice ubijalke (NK) in limfociti, so celice imunskega sistema in izjemno pomembne za obrambo organizma pred okužbami in drugimi tujki (9). Granulociti ali polimorfonuklearni levkociti so efektorske celice pridobljene imunosti s kratko življensko dobo (dva-tri dni). Nevrofilci so fagociti in prve celice, ki se pojavijo na vnetišču. Vsebujejo tudi granule z encimi in drugimi snovmi, ki so citotoksične za patogene mikroorganizme. Eozinofilci so celice, ki napadajo in uničujejo parazite, sodelujejo pa tudi pri alergijskih reakcijah. Bazofilci, ki jih je v krvnem obtoku najmanj, pa so povezani z vnetjem in poškodbami tkiv pri alergijskih reakcijah (12).

Monociti se nahajajo v krvi, v primeru vnetja pa preko žilnega endotelija vstopijo v vnetišče, kjer se diferencirajo v makrofage, ki nato s fagocitozo in tvorbo reaktivnih kisikovih zvrsti odstranjujejo in uničujejo mikroorganizme in druge tujke (12).

Dendritične celice so profesionalne antigene predstavljajoče celice, ki se v nezreli obliki nahajajo v tkivih in so fagociti. Po privzemu antigenov, te predelajo v peptide, ki se nato

vežejo na molekule HLA, izražene na njihovi površini, pri tem pa DC dozoriijo in potujejo v bezgavke. Tu komplekse HLA-antigenski peptid s svojimi antigenskimi receptorji prepoznajo določeni kloni limfocitov T in se aktivirajo.

Naravne celice ubijalke so morfološko podobne limfocitom T, le da so večje, izražajo druge vrste površinskih molekul in so efektorske celice prirojene imunosti. Zanje je značilno, da prepoznavajo in odstranjujejo spremenjene celice organizma, npr. rakave in okužene z virusi.

#### 1.1.2.1. Limfociti

To so celice pridobljene imunosti, ki nenehno krožijo med tkivi, limfatičnim sistemom in krvjo. Ločimo jih na podlagi površinskih molekul, ki so izraženi na njihovih površinah. V osnovi obstajajo limfociti T in limfociti B. Prvi s svojimi klonsko porazdeljenimi T-celičnimi receptorji (TCR) prepoznavajo antigene v obliki peptidov, vezanih na molekule HLA na površini antigene predstavljajočih celic (dendritične celice, makrofagi in limfociti B), pri čemer se aktivirajo in sprožijo imunske odzive. Glede na funkcijo ločimo več podvrst celic T, in sicer: celice T pomagalke tipa 1 (Th1) in tipa 2 (Th2), za katere so značilne molekule pripadnosti CD4, citotoksične limfocite T, ki izražajo molekule pripadnosti CD8, ter naravne regulatorne limfocite T (Treg), ki prav tako izražajo CD4 in zavirajo antigensko specifične imunske odzive. Po aktivaciji z antigeni, ki jih, po njihovi vezavi na B-celične antigenske receptorje, privzamejo z endocitozo, se limfociti B s pomočjo limfocitov T (Th2) diferencirajo v plazmatke, ki proizvajajo protitelesa. Plazmatke se nahajajo v bezgavkah, vranici in kostnem mozgu. Tako iz limfocitov T kot B nastanejo spominske celice, ki imajo pomembno vlogo pri ponovni izpostavitvi enakemu antigenu, saj je njihov odziv v tem primeru hitrejši in učinkovitejši (12).

#### 1.1.3. Trombociti ali krvne ploščice

Primarno so zadolženi za strjevanje krvi, poleg tega pa predstavljajo vir številnih vnetnih in rastnih dejavnikov, pomembnih za celjenje ran (9).

#### 1.1.4. Krvna plazma

Kri poleg krvnih celic sestavlja tudi krvna plazma (55%) (9). To je homogena viskozna tekočina svetlo rumene barve, ki jo sestavljajo številne v vodi raztopljene snovi: beljakovine, aminokisljine, glukoza, maščobe, hormoni, encimi ter različni minerali (klor, natrij, kalij, idr.). Krvna plazma opravlja številne pomembne naloge, pomembne za vzdrževanje homeostaze organizma (13).

## 1.2. MATIČNE CELICE

Matične celice (MC) so posebna vrsta celic, ki so v našem telesu prisotne in dejavne vse življenje. Omogočajo, da se različne okvare in poškodbe tkiv in organov lahko obnavljajo. To so posebne nezrele, primitivne celice, ki so po obliki podobne majhnim limfocitom. Odlikujejo jih naslednje pomembne značilnosti:

- Sposobnost samoobnavljanja, ki pri MC poteka s simetrično in asimetrično celično delitvijo. Pri simetrični nastaneta dve identični potomki starševske MC, pri drugi pa ena MC in ena progenitorna celica, ki se nato diferencira v zeleno tkivno linijo. Tako je poskrbljeno, da ostaja število MC bolj ali manj konstantno.
- Plastičnost, ki MC omogoča, da se lahko razvijajo v več kot 200 različnih vrst celic, ki tvorijo različna tkiva in organe človeškega organizma (15).
- Potentnost, ki je sposobnost MC, da se diferencirajo v določeno število različnih tkivnih celic.
- Glede na stopnjo diferenciacije ločimo MC na: totipotentne (najprimitivnejše; zigota in celice do nastanka morule), pluripotentne (embrionalne matične celice), multipotentne in unipotentne. Manj kot so celice diferencirane, večja je njihova potentnost.

Glede na izvor delimo MC na embrionalne, fetalne in matične celice odraslega človeka. Embrionalne MC nastanejo že zelo zgodaj v fetalnem razvoju, in sicer 5-7 dni po oploditvi ter predstavljajo celično maso znotraj blastociste. Te MC so pluripotentne, saj se iz njih lahko razvijejo vse celice odraslega organizma. Fetalne MC se nahajajo v zarodku in popkovnični krvi, MC odraslega človeka pa so prisotne v praktično vseh tkivih odrasle osebe (15).

## 1.3. KRVOTVORNE MATIČNE CELICE IN NJIHOVA PRESADITEV

Krvotvorne matične celice so se sposobne diferencirati v vse vrste krvnih celic. Krvne celice imajo razmeroma kratko življensko dobo, zato morajo neprestano nastajati (11).

S presaditvami KMC zdravimo predvsem krvne bolezni, pri katerih nastajajo rakavo spremenjene celice, pa tudi nekatere druge bolezni, predvsem prirojene imunske

pomanjkljivosti (1). Presajene, zdrave KMC nato poskrbijo, da v prejemniku nastajajo normalne vrste krvnih oz. imunskih celic. Pomemben korak pri tovrstnem zdravljenju pa predhodna priprava bolnika na presaditev oz. kondicioniranje. Običajno uporabljamo tako imenovano mieloablativno kondicioniranje, pri katerem povzročimo ireverzibilno okvaro prejemnikovega kostnega mozga (citostatiki v kombinaciji z obsevanjem celotnega telesa). To obliko priprave bolnika na presaditev spremljajo številni zapleti, zato se vedno bolj uporablja nemieloablativno kondicioniranje. V tem primeru bolnika pripravimo z manj invazivno kombinacijo imunosupresivnih zdravil in citostatikov.

Trenutno s presaditvami KMC zdravijo tiste krvne bolezni in prirojene imunske pomanjkljivosti, ki jih je odobrila FDA, in sicer: akutno limfoblastno levkemijo, kronična mieloično levkemijo, juvenilno mielomonocitno levkemijo, mielodisolazijo, akutno mieloično levkemijo, multipli mielom, SCID X1, anemijo srpastih celic in talasemijo.

KMC so nediferencirane celice z značilnimi biološkimi lastnostmi (samoobnavljanje, multipotentnost, plastičnost in naselitev v kostnem mozgu prejemnika po presaditvi), ki se lahko diferencirajo v multipotentne predhodniške (progenitorne) celice vseh limfoidnih in mieloidnih krvnih celičnih linij. Iz mieloidne celične linije predhodnikov se nato razvijejo eritrociti, trombociti, nevtrofilci, bazofilci, eozinofilci, monociti in makrofagi. Limfoidni predhodniki pa generirajo limfocite B, limfocite T in celice NK (15).

### 1.3.1. Viri KMC za presaditev

Krvotvorne matične celice ki jih uporabljajo za presaditev lahko pridobijo iz treh različnih virov: kostnega mozga, periferne krvi, po predhodni mobilizaciji in popkovnične krvi.

Presaditev kostnega mozga je v bistvu intravenska infuzija KMC, ki jih zberemo s ponavljajočimi se igelnimi aspiracijami rdečega kostnega mozga iz ploščatih kosti v predelu medenice (50 do 200 vbodov in aspiracij). Med posegom je darovalec v splošni anesteziji (4). Tak odvzem seveda ni primeren za majhne otroke, saj lahko povzroči obsežne poškodbe tkiva, vnetne reakcije in druge neželene zaplete (3). S postopkom mobilizacije z uporabo človeškega rekombinantnega rastnega dejavnika G-CSF, lahko KMC iz kostnega mozga v velikih količinah izplavljamo v periferno kri, iz katere jih nato specifično zberemo s postopkom afereze. Postopek so najprej razvili za potrebe avtolognih, kasneje pa so ga začeli uporabljati tudi za pripravo suspenzije KMC pri alogenskih presaditvah.

V 90-ih letih prejšnjega stoletja je postala pomemben vir KMC tudi popkovnična kri, ki vsebuje veliko tovrstnih celic z bistveno manjšo imunsko reaktivnostjo kot jo kažejo MSC, pridobljene iz odraslih darovalcev. Njeno zbiranje je najmanj invazivno, saj za mati in novorojenega otroka ne predstavlja nobenega tveganja. Popkovnično kri s KMC odvzamejo iz popkovnice, ki jo sicer zavržejo oz. uničijo (14). Ko popkovnico prerežejo in ta preneha utripati, z iglo, ki jo zabodejo v popkovnično veno, medtem ko je posteljica še v maternici, v brizgo aspirirajo kri in jo iztisnejo v sterilno vrečko, v kateri je 21 ml antikoagulanta (15).

### 1.3.2. Alogenska in avtologna presaditev KMC

Kot smo že omenili, ločimo glede na vrsto darovalca KMC, ki jih prejme bolnik, alogensko in avtologno presaditev. V primeru slednje bolnik po mieloablativnem kondicioniranju prejme lastne KMC, ki jih odvzamejo in do uporabe zamrznejo po predhodni terapiji z zdravili, s katerimi iz njegovega kostnega mozga odstranijo patološko spremenjene celice (1). To vrsto terapije uporabljajo predvsem v primerih, ko maligna bolezen ne prizadene kostnega mozga, po njej pa ni neželenih imunskih reakcij (8). Pri alogenski presaditvi pa bolnik, po ustreznem kondicioniranju, prejme KMC, ki pripadajo sorodnemu ali nesorodnemu darovalcu. Da se izognemo zavrnitvenim oz. neželenim imunskim reakcijam, moramo pri izbiri darovalca obvezno poiskati takega s čim večjo stopnjo tkivne skladnosti z bolnikom (ujemanje v molekulah HLA) (1).

### 1.3.3. Tkivna skladnost

Omenili smo že, da lahko tkivno skladne sorodne darovalce med ožjimi družinskimi člani bolnika najdemo v le 25-30% primerov. Na površinah imunskih in tudi večine ostalih telesnih celic z jedrom so izražene molekule HLA razreda I (A, B in C), na površinah antigene predstavljajočih celic pa poleg njih tudi molekule HLA razreda II (DR, DQ in DP). Molekulam HLA pravimo tudi tkivni ali transplantacijski antigeni, in kot smo že omenili, vežejo in predstavljajo različne peptide (telesu lastne in tuje). T-celični receptorji prepoznavajo tako lastne molekule HLA z vezanimi telesu tujimi peptidi, kakor tudi telesu tuje, alogenske molekule HLA drugih ljudi, posledica česar je aktivacija limfocitov T. Zato je nujno potrebno, da je ujemanje med darovalčevimi in prejemnikovimi

molekulami HLA čim večje, še posebej v primerih, ko je darovalec nesorodna oseba (1, 2). Izjema so le KMC iz popkovnične krvi, ki so imunsko še vedno precej naivne, zato si lahko v tem primeru privoščimo razmeroma precejšnjo stopnjo neujemanja v molekulah HLA razreda I med darovalcem in prejemnikom presadka (1).

#### 1.3.4. Zapleti po alogenski presaditvi KMC

Ena od nevarnosti po presaditvi kostnega mozga je aplazija kostnega mozga, ki je posledica kondicioniranja, pomeni pa, da bolnik/prejemnik presadka ne more več tvoriti lastnih krvnih celic, presajene KMC pa šele vzpostavljajo normalno hematopoezo. To obdobje traja približno tri tedne, v tem času pa je bolnik izpostavljen visokemu tveganju za nastanek okužb. Druga posledica aplazije je lahko tudi trombocitopenija, s tveganjem za krvavitve zaradi pomanjkanja trombocitov (1).

Poglavitni zaplet, ki se lahko pojavi po alogenski presaditvi KMC je GvHD. Bolnik, ki je sprejel presadek je, zaradi kondicioniranja, morebitnih okužb in seveda zaradi svoje bolezni, v slabem zdravstvenem stanju, kar se kaže tudi v pro-vnetnih spremembah njegovih endotelijskih in epitelijjskih celic. Te se kažejo tako v obliki povečanega izražanja adhezijskih, stresnih in drugih molekul, na njihovih površinah, kot tudi v proizvodnji vnetnih citokinov in kemokinov. V alogenskem okolju se seveda znajdejo tudi infundirane celice darovalca, kar ima prav tako za posledico aktivacijo in namnožitev darovalčevih pro-vnetnih aloimunskih celic. Bolezen presadka zoper gostitelja je torej posledica aloreaktivnosti darovalčevih limfocitov T proti prejemnikovim tkivnim antigenom, do katere pride po prenosu imunsko kompetentnega tkiva v imunsko nekompetentnega prejemnika (16). Aloreaktivnost spodbudi tudi kaskado nastajanja vnetnih citokinov, ki povzročijo apoptozo epitelnih in endotelnih celic ter posledične poškodbe organov. Kadar se bolezen pojavi v prvih 100 dneh po presaditvi govorimo o aGvHD, v nasprotnem primeru pa o cGvHD.

##### 1.3.4.1. Akutna oblika bolezni GvHD (aGvHD)

Gre za posledico vnetnih imunskih odzivov, ki potekajo v koži, prebavilih (črevesje) in jetrih (1). Ti organi in organski sistemi predstavljajo prvo linijo obrambe telesa pred različnimi okužbami, zato se v njihovih tkivih nahaja veliko število antigenov predstavljajočih celic, še posebej DC in makrofagov, ki inicirajo in spodbudijo potek aGVHD, ne le z aktivacijo darovalčevih limfocitov T, temveč tudi s proizvodnjo pro-

vnetnih citokinov (16). Kot smo že omenili, se lahko pri hujših oblikah aGvHD pojavijo različne nepravilnosti v delovanju in poškodbe prebavil in jeter, ki jih spremljajo bolečine v predelu trebuha in driska, ki lahko vsebuje tudi kri. Najbolj nas je zanimala kako aGvHD prizadene kožo, ki je v tem primeru običajno najbolj prizadet organ in kakšne patološke kožne manifestacije lahko pri tem opazimo. Glede na stopnjo prizadetosti posameznega organa lahko aGvHD razdelimo v 4 stadije (Preglednica I). Na to diagnozo zdravnik posumi takrat, ko prejemnik KMC razvije enega ali več od naslednjih znakov: dermatitis (kožni izpuščaj); kožne mehurje; močne bolečine v trebuhu, ki jih lahko spremlja driska; slabost, bruhanje in hepatitis (zvišane vrednosti bilirubina in/ali jetrnih encimov) (5). Pri bolnikih, pri katerih se na začetku pojavijo kožne spremembe, obstaja večja verjetnost za hitrejši začetek zdravljenja, kot pri tistih, pri katerih se bolezenski znaki pojavijo le na notranjih organih (6).

Preglednica I: Stopnje aGVHD in prizadetost posameznih organov, glede na resnost njenega poteka; povzeto po (1).

	Stadij I	Stadij II	Stadij III	Stadij IV
Koža	Makulopapulozni izpuščaj, ki zajema <25% telesne površine	Makulopapulozni izpuščaj, ki zajema 25-50% telesne površine	Makulopapulozni izpuščaj, ki zajema 50-100% telesne površine	Stadij 3 z izoblikovanimi bulicami in možno deskvamacijo
Jetra	Bilirubin 2-3 mg/dl	Bilirubin 3-6 mg/dl	Bilirubin 6,1-15 mg/dl	Bilirubin > 15mg/dl
Prebavila	Stalna slabost in driska, >30 ml/kg	Driska, > 60 ml/kg	Driska, > 90 ml/kg	Driska, >90 mg/kg ali > 2,000 ml/dan ali močne bolečine v trebuhu in/ali ileus

#### 1.3.4.2. Kronična oblika GvHD (cGvHD)

Tudi ta oblika bolezni je posledica nepopolne tkivne skladnosti med darovalcem in prejemnikom presadka. Kronična GvHD se pojavi po 100 dneh od presaditve, in sicer v manj izraziti oz. hudi obliki kot aGvHD. V bistvu gre za sistemski multiorganski sindrom, ki spominja na avtoimunski vaskulitis. Limfociti T darovalca napadajo tkiva oz. organe



gostitelja, pri čemer povzročajo poškodbe epitelijskega tkiva, vnetje s prisotnostjo mononuklearnih celic, fibrozo in atrofijo limfnega sistema. Zaradi dolgotrajne oslabiljenosti imunskega sistema, ki jo dodatno pogloblja terapija z imunosupresivi, lahko pride do življenjsko nevarne okužbe s citomegalovirusom. Organi in tkiva, ki so pri cGvHD najpogosteje prizadeti so koža, sluznica ust, oči, sinusi in prebavila, lahko pa so prizadeti tudi pljuča, mišice in kite, vaginalna sluznica ter kostni mozeg. Kronična oblika GvHD se lahko razvije iz aGvHD, lahko se začne popolnoma neodvisno od nje, lahko pa se pojavi tudi po intervalu, ki sledi ozdravljeni oz. obvladani aGvHD. Tudi pri cGvHD so nas najbolj zanimale kožne manifestacije. Značilnosti omejene in razširjene oblike cGvHD so predstavljene v Preglednici II.

Preglednica II: Oblike cGvHD in prizadetost posameznih organov, glede na obsežnost njenega poteka; povzeto po (2).

Omejena oblika bolezni	Razširjena oblika bolezni
<ul style="list-style-type: none"> <li>- nepravilnosti v ustni votlini (med licem in dlesnijo) brez ostalih znakov aGvHD</li> <li>- zmerne spremembe jetrne funkcije;</li> <li>- manj kot 6 papuloznih plakov z znaki deskvamacije ali omejen kožni izpuščaj ali depigmentacija &lt;20% površine kože;</li> <li>- suho očesno zrklo;</li> <li>- lezije vaginalne sluznice.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- manifestacije na 2 ali več organih z znaki aGvHD;</li> <li>- izguba teže za &lt; 15%;</li> <li>- skleroderma ali morfija;</li> <li>- oniholiza (noht ločen od površine kože) ali onihodistrofija (razpad nohtne plošče);</li> <li>- fasciitis;</li> <li>- bronhiolitis;</li> <li>- spremembe jetrnih testov in pozitivna jetrna biopsija;</li> <li>- pozitivna biopsija prebavil;</li> </ul>

## 2. NAMEN DELA

Zanimale nas bodo predvsem različne kožne manifestacije, ki se pojavijo kot posledica bolezni presadka zoper gostitelja (GvHD), najpogostejšega zapleta po alogenski presaditvi KMC. Kožo in nekatere sluznice v največji meri prizadene akutna oblika te bolezni (aGvHD), patološke kožne spremembe pa so značilne tudi za njeno kronično obliko (cGvHD), zato nas bo zanimalo tudi ali gre za podobne ali različne manifestacije, in ali so te v različnih stadijih bolezni spreminjajo.

Pri našem delu se bomo osredotočili na pediatrične bolnike, ki so jim v obdobju med leti 1991 in 2012, zaradi zdravljenja različnih osnovnih krvnih bolezni, presadili alogenske MHC na Kliničnem oddelku (KO) za otroško hematologijo in onkologijo, Pediatrične klinike UKC Ljubljana. Zanimalo nas bo pri koliko od njih se je razvila GvHD, kakšne vrste in kako resna je bila, ter ali je prizadela kožo. Ugotavljali bomo tudi pri kolikih bolnikih, ki so prejeli KMC sorodnega darovalca se je razvila GvHD, v primerjavi s tistimi, ki so jim presadili KMC nesorodnega darovalca.

Poleg tega nameravamo opisati načine zdravljenja različnih kožnih manifestacij ter ugotoviti ali se je način njihovega bodisi lokalnega ali sistemskega zdravljenja skozi leta kakorkoli spremenil. Osvetlili bomo tudi kozmetološki vidik nege prizadete kože, ki je pomemben predvsem zaradi preprečevanja ali vsaj omilitve trajnih poškodb, saj je pri pediatričnih bolnikih koža tanjša kot pri odraslih ljudeh in zato tudi veliko bolj občutljiva.

Pregledali bomo tudi postopke post-transplantacijske nege, ki je pri pediatričnih bolnikih izrednega pomena, saj so funkcije njihovih imunskih sistemov po presaditvi KMC močno okrnjene, zato so v tem obdobju izrazito dojemljivi za različne vrste okužb z virusi, bakterijami in glivicami. Zato nameravamo na zgoščen način predstaviti tudi pojavnost in vrste okužb, ki se najpogosteje pojavljajo v različnih časovnih obdobjih po presaditvi ter njihovo zdravljenje. Poleg tega bomo na kratko opisali tudi ostale, zgodnje in pozne zaplete, ki lahko spremljajo alogensko presaditev KMC in so še posebej kritične za pediatrične bolnike.

### **3. MATERIALI IN METODE**

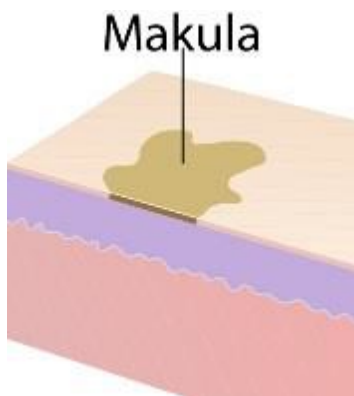
V diplomsko nalogo smo vključili podatke, ki smo jih s pomočjo intervjujev specialista, ki izvaja alogenske presaditve KMC na Pediatrični kliniki UKC Ljubljana in pregledom post-transplantacijskih zapletov posameznih primerov, ki so bili obravnavani v letih 1991 do 2012, natančneje analizirali tiste, pri katerih so se zaradi GvHD razvile različne patološke spremembe kože. Prav tako pa smo pregledali različne načine zdravljenja omenjenih in drugih zapletov, ki so jih uporabili pri posameznih bolnikih in jih dopolnili s podatki iz strokovne literature.

## 4. REZULTATI IN RAZPRAVA

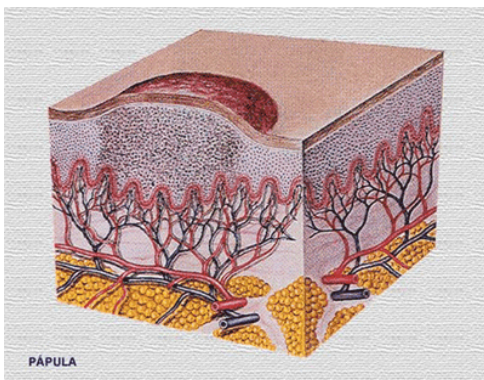
Na Kliničnem oddelku (KO) za onkologijo in hematologijo Pediatrične klinike Ljubljana so od leta 1991 do leta 2012 opravili 65 alogenskih presaditev KMC. Najpogostejše osnovne bolezni, ki so jih zdravili na ta način so bile maligne bolezni hematopoietskih organov, torej levkemije in limfomi, in sicer v 44 primerih (71%), aplastična anemija z 9 primeri (15%), presnovne bolezni v 5 primerih (8%) in primarne (prirojene) imunske pomanjkljivosti s 4 primeri (6%). Število naštetih osnovnih bolezni je bilo 62, število opravljenih alogenskih presaditev KMC pa 65. Razlog za to je dejstvo, da je bilo pri določenih bolnikih opravljenih več presaditev. Večinoma se to zgodi potem, ko prva presaditev ni bila uspešna ali pa v primerih, ko se osnovna bolezen, kljub predhodnem posegu, povrne. Pri 29 presaditvah (43%) je bil darovalec tkivno skladen družinski član, medtem, ko je bil pri 39 presaditvah (57%) darovalec nesorodni. Pri bolnikih, ki so prejeli alogenske KMC sorodnega darovalca se je GvHD razvila v 7 primerih (24%), pri tistih, z katere so alogenske KMC darovali nesorodni darovalci pa je bil ta odstotek nekoliko višji, in sicer 49% (19 bolnikov). Ti rezultati potrjujejo dejstvo, da je tkivna skladnost med bolnikom in prejemnikom izrednega pomena za uspešnost presaditve KMC, poleg tega pa tudi to, da so zaradi pravil dedovanja najboljši darovalci najožji sorodniki ter, da so za tkivno skladnost in posledično neimunogenost, poleg antigenov HLA obeh razredov, pomembni tudi druge polimorfne molekule. Pri večini bolnikov, pri katerih se je razvila GvHD, so se pojavile patološke kožne manifestacije III. in IV. stadija, kar pomeni, da so bili makulopapulozni izpuščaji vidni na 50-100% telesne površine, pri čemer so bile lahko prisotne bulice in deskvamacija ali luščenje kože. Kožne spremembe so torej v večini primerov prvi pokazatelj prisotnosti GvHD, kar je na nek način ugodno, saj lahko zaradi jasnih oz. vidnih znakov bolezni hitro prepoznajo in jo začnejo nemudoma zdraviti.

#### 4.1. Patološke kožne spremembe pri aGvHD in njihovo zdravljenje

Za aGvHD je značilen makulopapulozni izpuščaj. Zanj je značilno, da je nad nivojem kože in z opazno spremembo barve, saj gre za vnetno reakcijo. Prizadeta mesta so običajno ušesa, vrat, ramena, prsa, hrbet, dlani in podlahti. Spremembe, ki se pojavijo na koži so podobne tistim, ki nastanejo zaradi preobčutljivostnih reakcij na zdravila, najbolje pa jih razločijo in diagnosticirajo z odvzemom in pregledom biopsije, pri čemer pa je nujno, da rezultate tega pregleda tudi ustrezno klinično umestijo.



Slika 1: Shematski prikaz makule; prirejeno po (1).



Slika 2: Shematski prikaz papule; prirejeno po (2).

Na slikah 1 in 2 vidimo, da je za makulo značilna sprememba barve kože, za papulo pa to, da je vnetni izpuščaj nad nivojem kože.



Slika 3: Makulopapulozni izpuščaji pri otroku pred terapijo (3 – fotografija na levi; arhiv KO za otroško hematologijo in onkologijo, Pediatrična klinika UKC Ljubljana hematološke klinike – fotografija na desni).

Na Sliki 3 vidimo spremenjeno barvo kože (rdečina, fotografija na levi strani), prav tako pa tudi izbokline (fotografija na desni strani), torej kožne spremembe nad nivojem kože, kar je značilno za papule. Na desni fotografiji je opazna tudi rahla deskvamacija (luščenje kože), kar nakazuje, da gre za IV. stadij aGvHD, medtem, ko za primer bolnika, predstavljenega na levi fotografiji, sklepamo, da je razvil III. stadij bolezni, saj na koži ni sledov kakršnih koli bulic ali deskvamacije, kožni izpuščaj pa je zelo obsežen, saj pokriva celoten hrbet od koder se širi tudi na okončine in po vratu.

Take oblike aGvHD je potrebno pričeti zdraviti čim prej. V profilaksi aGVHD uporabljamo ciklosporin A, včasih tudi v kombinaciji z metotreksatom, ki je citostatik in imunosupresiv. Za zdravljenje že dobro razvite oblike aGvHD pa obstaja več uveljavljenih, pa tudi eksperimentalnih metod, pri čemer predstavljajo osnovo kortikosteroidi (metilprednizolon), še posebej, če niso bili uporabljeni že prej, kot preventiva za nastanek bolezni. Lahko jih uporabljamo v kombinaciji s ciklosporinom A ali katerim drugim imunosupresivom, npr. takrolimusom ali azatioprimom. Rezultati zdravljenja so uspešnejši pri bolnikih, ki kažejo zgolj patološke kožne spremembe (do 66% uspešnost), v primerjavi s tistimi, pri katerih bolezen prizadene tudi prebavila in jetra (2-40% uspešnost). Kortikosteroide uporabljajo dokler ni bolezen popolnoma odpravljena,

nato pa njihove odmerke počasi zmanjšujejo. Zdravljenje s kortikosteroidi ima lahko številne neželene učinke, npr. okužbe (še posebej virusne in glivične), kostno dekalifikacijo, osteoporozo, sladkorno bolezen in hipertenzijo (1). V primeru, da po 5-7 dneh jemanja kortikosteroidov še ni vidnih učinkov oziroma izboljšanja bolezni, to pomeni, da imamo opraviti z na steroide neodzivno ali refraktarno GvHD, ki terjata drugačen način zdravljenja. V takih primerih največkrat poskušajo z imunosupresijo, za katero lahko uporabljajo posamezna imunosupresivna zdravila ali pa njihove kombinacije, kar je odvisno od vrste osnovne bolezni. Pogosto se uporablja anti-timocitni globulin (živalska protitelesa proti človeškim molekulam CD3), ki je močan imunosupresiv, vendar pa ima močne neželene učinke (5). Možno je tudi zdravljenje z biološkimi zdravili, kot je npr. daklizumab, humanizirano mišje monoklonsko protitelo IgG1, ki se veže na alfa verigo CD25 visoko-afinitetnega receptorja za interlevkin-2 (IL-2), s čimer ga blokira, zato je kompetitivni zaviralec delovanja IL-2 na aktivirane limfocite T (1). Uporablja se tudi infliksimab, ki je prav tako himerno mišje/človeško monoklonsko protitelo, katerega tarča pa je vnetni citokin, tumorje nekrotizirajoči dejavnik- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). V postopku preskušanja, na osnovi do sedaj izjemnih rezultatov, ki so jih zabeležili v okviru študij na živalih pa so naslednji imunosupresivi: mofetilmikofenolat, tresperimus, rapamicin in baziliksimumab (himerno mišje/človeško monoklonsko protitelo proti CD25). Kljub temu, da so skozi leta skušali poiskati novejša oz. modernejša, predvsem pa učinkovitejša načine zdravljenja patoloških kožnih sprememb, ki nastanejo zaradi GvHD, zlati standard še vedno predstavljajo kortikosteroidi. Za zdravljenje obsežnih kožnih sprememb pri aGVHD se je kot zelo učinkovito, tako pri pediatričnih kot tudi pri odraslih bolnikih, izkazalo tudi ultravijolično obsevanje metoksipsorilena (PUVA) (1). Psoraleni, aplicirani topično ali sistemsko, vstopijo v celice in se vrinejo med bazne pare v molekulah DNA. Po izpostavitvi žarkom UVA absorbirajo fotone, se kemijsko aktivirajo in se kovalentno vežejo na bazne pare v DNA, ki jih tako navzkrižno povežejo. To ima za posledico anti-proliferativne, anti-angiogene, pro-apoptotične in imunosupresivne učinke. Psoraleni pa stimulirajo pigmentacijo kože (18).

Izpostaviti moramo dejstvo, da pri malignih krvnih boleznih oz. različnih levkemijah, izoliranih kožnih manifestacij stadija I aGVHD nikoli ne zdravijo, saj želijo izkoristiti morebitne pozitivne imunske učinke presadka, ki so lahko usmerjeni zoper zaostale levkemične celice (GvL). Temu pa ni tako v primeru presnovnih bolezni in imunskih

pomanjkljivosti, zdravljenih s presaditvijo alogenskih KMC, kjer nemudoma začnejo z zdravljenjem. Kadar gre pri tem za izolirane kožne spremembe začetnih oz. blažjih stadijev aGvHD in posledice bolezni še niso vidne na ostalih organih, poteka zdravljenje z lokalno uporabljenimi kortikosteroidi. V primerih pa, ko je obseg patoloških kožnih sprememb zelo velik ali so poleg kože zaradi aGvHD prizadeta tudi jetra in prebavila, pa zdravljenje poteka s sistemsko apliciranimi kortikosteroidi (1).



Slika 4: Koža otroka z aGvHD, po uspešni terapiji s kortikosteroidi; povzeto po (arhiv KO za otroško hematologijo in onkologijo, Pediatrična klinika UKC Ljubljana)

Slika 4 prikazuje kožo bolnika, ki so ga uspešno lokalno zdravili kortikosteroidi. Koža je v celoti brez izpuščajev in ni več pordela.

#### **4.2. Patološke kožne spremembe pri cGvHD in njihovo zdravljenje**

Za kožne spremembe, ki se pojavijo pri cGvHD so običajno značilni različni eritemi, ki jih spremljajo luščenje in papule. Poleg tega se lahko pojavita tudi hiper- in hipopigmentacija. Pojavita se lahko dermalna in subkutana fibroza, ki povzročita zgoščevanje in utrjevanje kože, čemur rečemo morfeja. Ta lahko zajema dermis ali mišično tkivo, njeni klinični



znaki pa spominjajo na sklerodermo. Zelo značilno je tudi stanje poikiloderme (Slika 5), ki se kaže v obliki hiper- in hipopigmentacij, majhnih razširjenih žil, ki so blizu površja kože ter atrofij. Lahko se pojavijo tudi različni kožni lišaji, kot je npr. lichen planus (Slika 6). V tem primeru gre za rdečkasto-rjav izpuščaj, ki je nepravilnih oblik in se najpogosteje pojavi na spodnjem delu hrbta, zapestjih in gležnjih. Zaradi omenjenih poškodb je koža stanjšana, tesnejša in zelo občutljiva, poleg tega pa je zelo upočasnjeno celjenje ran. Posledica takega stanja je izguba dlak ter uničenje žlez znojnic. Zaradi slabega pretoka limfe se lahko pojavijo tudi mehurji in razjede. V primerih, ko se v tako spremenjeni koži pojavi virusna okužba, pa se stanje lahko izrazito poslabša. V redkih primerih lahko bolnike prizadene tudi delna ali popolna levkoderma, to je bela ali belkasta koža zaradi depigmentacije, nastala zaradi poškodb melanocitov, ki spominja na albinizem (popolna odsotnost kožnega pigmenta melanina). Spremembe se lahko pojavijo tudi na lasišču in samih laseh, ki postanejo tanjši in krhki. Zaradi sprememb lasišča lahko pride do pojava alopecije (plešavost) in stanja podobnega seboreji, za katero sta značilna prekomerno izločanje maščobe in spremenjena sestava maščobnega izločka (kopičenje maščobnih kislin). Prizadeti so lahko tudi nohti, ki postanejo tanki in krhki. Številne od naštetih sprememb so lahko trajne (7).



Slika 5: Primer poikiloderme, z značilnimi hipopigmentiranimi (razbarvana območja) in hiperpigmentiranimi (rjave lise) predeli kože, ki so razširjeni po obrazu in vratu, od koder se širijo na prsni koš (4).



Slika 6: Primer lišaja lichen planus (5).

Zdravljenje cGvHD prav tako poteka s kortikosteroidi in biološkimi zdravili, kot je daklizumab, poleg tega pa tudi s talidomidom, ki je popolnoma varen za pediatrične bolnike. Razlog za uporabo tega zdravila izključno za zdravljenje cGvHD in ne aGvHD je v tem, da je talidomid na voljo samo v peroralni obliki, pri hujši obliki aGvHD pa so pogosto prizadeta prebavila, zato se ne bi pravilno absorbiral.

#### **4.3. Kozmetološki vidik nege kože ob uporabi kortikosteroidov**

Kortikosteroidi se torej uporabljajo tako za zdravljenje posledic akutne kot kronične oblike GvHD. Pri njihovi dolgotrajni uporabi pa moramo biti zelo previdni in se strogo držati navodil za uporabo. Med neželenimi učinki, ki se lahko pojavijo pri sistemski uporabi kortikosteroidov moramo izpostaviti supresijo nadledvične žleze in zastoj rasti pri otrocih. Nas pa so najbolj zanimale posledice dolgotrajnega lokalnega oziroma topikalnega nanašanja kortikosteroidnih pripravkov na kožo. V tem primeru se neželeni učinki kažejo predvsem kot rdečica, srbečica, pekoč občutek na koži, izredna izsušenost kože ter njeno stanjšanje. Posledično je koža na prizadetih mestih še bolj občutljiva, poveča pa se tudi transepidermalna izguba vode, saj je njen zaščitni plašč močno oslavljen. Zato je potrebno med in po zdravljenju s kortikosteroidi poskrbeti za pravilno nego kože. Pomembna je uporaba nedražečih mil, ki imajo rahlo kisel pH, tako kot naša koža. Poleg tega moramo poskrbeti tudi za to, da koži vrnemo izgubljene lipide in jo negujemo. V ta namen priporočamo negovalne pripravke, ki vsebujejo vlažilce. Ti naj delujejo okluzivno in emolientno. Okluzivi (npr. vazelin in parafin) na koži tvorijo film, ki predstavlja bariero, s

pomočjo katere se voda zadrži v poroženeli plasti (stratum corneum). Emolientne sestavine (npr. jojobino olje, izopropil izostearat, idr.) pa kožo naredijo mehko in gladko, najpogosteje tako, da se vgradijo v lipidno plast poroženele plasti in s tem zadržujejo vodo v koži. Z uporabo omenjenih sestavin lahko torej učinkovito zmanjšamo transepidermalno izgubo vode, koži pa vrnemo vlago in prožnost.

#### **4.4. Nega bolnikov po alogenski presaditvi KMC**

Postransplantacijska nega bolnikov, še posebej pediatričnih, je izrednega pomena za optimizacijo izida tega zahtevnega in tveganega terapevtskega procesa. Presaditev alogenskih KMC namreč predstavlja za bolnika veliko fizično in psihično obremenitev. Postopek poteka tako, da bolnik v žilo prejme suspenzijo darovalčevih KMC, tako kot bi prejel transfuzijo. Ker je zaradi predhodnega režima kondicioniranja njegov lastni kostni mozeg kot vir hematopoeze okvarjen oz. uničen, je bolnik v tej fazi slabokrven in ima pomanjkanje levkocitov in trombocitov, zato je zelo dovzeten za najrazličnejše okužbam in nagnjen k krvavitvam. Zaradi tega je najboljša, da bolniki bivajo v posebnih izolacijskih sobah z nadtlakom filtriranega sterilnega zraka, kjer je možnost, da bi prišli v stik z eksogenimi povzročitelji okužb močno zmanjšana. Poleg tega je pomembna tudi profilaktična uporaba protimikrobnih zdravil, posebna prehrana ter prejemanje transfuzij določenih krvnih pripravkov (eritrociti in trombociti). Z ustrezno izbiro in uporabo prehrane preprečujejo izgubo telesne mase in tekočine ter skrbijo za vzdrževanje elektrolitnega ravnovesja. Pomembna je tudi skrb za udobje bolnikov ter povečanje možnosti za preživetje tistih, ki ne morejo jesti in absorbirati hranil. Dodatno težavo pri prehranjevanju predstavlja mukozitis, ki se lahko razvije v ustni votlini. Gre za vnetno reakcijo ustne sluznice, ki se najprej kaže kot bolečina v ustih in jeziku, kasneje pa se lahko razvijejo boleče razjede ustnic in sluznice v ustni votlini. Mukozitis lahko lajšamo s hladilnimi obkladki (15). Glavni cilj vseh omenjenih prizadevanj je torej, da bolnikom povrnemo sposobnost prehranjevanja in absorpcije hranil kar se da hitro po presaditvi.

Nega bolnikov po presaditvah alogenskih KMC je izrednega pomena tudi zaradi velike možnosti okužb. Za vse tiste, ki prihajajo v stik z bolniki, je obvezna uporaba mask, zaščitnih rokavic in sterilnih zaščitnih oblačil. Prav tako je pomembno tudi prezračevanje prostora v katerem se bolnik nahaja, in sicer s filtracijo zraka preko filtrov HEPA. Voda, s

katero prihajajo bolniki v stik, mora biti strogo nadzorovana, da ne pride do okužb, npr. z *Legionello*. Za preprečevanje okužb z bakterijami endogenega izvora pa je pomembna prehrana z nizko vsebnostjo mikroorganizmov, zato niso primerni sveže sadje in zelenjavo ter različni mlečni izdelki. Nenazadnje je zelo pomembna tudi zaščita bolnikov pred soncem po odpustu iz bolnišnice. Zato se morajo izogibati nepotrebni izpostavljenosti sončnim žarkom, uporabljati zaščitno obleko in pokrivala ter kreme z visokimi vrednostmi zaščitnih faktorjev, in sicer v obliki pripravkov, ki kože ne dražijo ampak jo negujejo (2).

Kljub dosledno izvajanim preventivnim ukrepom, ki smo jih opisali, pa lahko, zaradi močno oslabiljenega imunskega sistema vseeno pride do okužb, ki povzročajo hude zaplete in so pogosto vzrok za smrt bolnikov po presaditvi alogenskih KMC. Čeprav je tveganje za smrt zaradi okužb veliko manjše pri avtolognih presaditvah, pa morajo vse preventivne ukrepe izvajati tudi v tem primeru (2).

#### **4.5. Pojavnost in vrste okužb pri bolniku po alogenski presaditvi KMC ter njihovo zdravljenje**

Oglejmo si v katerih obdobjih po presaditvi KMC se pojavljajo resne, življenje ogrožajoče okužbe in kateri mikroorganizmi jih najpogosteje povzročajo:

- Po kondicioniranju nastopi tako imenovana aplastična faza. V tem obdobju so poleg hudih poškodb sluznic pogosto prisotne tudi bakterijske okužbe, ki povzročajo nevtropenije. Od glivičnih okužb je najpogostejša aspergiloza, ki jo povzročajo plesni iz rodu *Aspergillus* in je najresnejša med možnimi tovrstnimi okužbami. Med virusnimi okužbami prednjači tista, ki jo povzroča virus herpes simpleks (HSV) (Slika 7). Povzroča okužbe kože, sluznic, oči, možganov in možganskih ovojnic. Smrtnost transplantiranih bolnikov v tem obdobju je predvsem posledica seps, pljučnic in glivičnih okužb.
- Drugo fazo predstavlja obdobje od začetka zorenja kostnega mozga, pa do najmanj tretjega ali četrtega meseca po presaditvi. Zanj je značilna celična imunska pomanjkljivost zaradi zmanjšanega števila in funkcije antigensko specifičnih (CD<sup>+</sup> limfociti T) in nespecifičnih (celice NK) citotoksičnih celic. Za to obdobje je najbolj značilna okužba s citomegalovirusom (CMV), ki je sev HSV (Slika 8). Ostali povzročitelji okužb pa so lahko adenovirusi in virusi, ki napadajo dihalni sistem.

- Obdobje od četrtega meseca po presaditvi dalje je tretja faza. V njeni ima večina bolnikov pomanjkanje protiteles, poleg tega pa je zanjo značilen tudi visok odstotek bolnikov s cGvHD, z izrazito oslabiljenim imunskim sistemom. Večina smrtnih okužb se sicer pojavi v prvih šestih mesecih po njihovem pojavu, vendar pa so pozne okužbe lahko prav tako nevarne in jih ne smejo spregledati, še posebej pri bolnikih s cGVHD (2).



Slika 7: Primer kožnih lezij pri okužbi s herpes simpleks virusom (HSV) (6).



Slika 8: Primer kožnih lezij pri okužbi s citomegalovirusom (CMV) (7).

Zdravljenje okužb je odvisno od povzročiteljev bolezni. Za lokalno zdravljenje okužbe s herpes simpleks virusom (HSV) so na voljo kreme s protivirusno učinkovino aciklovir, ki preprečuje sintezo virusne DNA. Aciklovir je virustatik, kar pomeni, da povzroči propad virusa. Z zdravljenjem morajo pričeti takoj. Običajno traja pet, pri resnejših okužbah pa lahko tudi deset dni. Sistemske zdravljenje z aciklovirjem v obliki tablet se uporablja, če se okužbe s HSV v krajšem časovnem obdobju večkrat ponovijo. Na trgu je tudi veliko pripravkov brez recepta, ki jih bolniki uporabljajo ob tovrstnih okužbah, vendar pa se moramo zavedati, da ne uničujejo povzročitelja, temveč le lajšajo spremljajoče tegobe

(pekoč občutek, srbenje) in pomagajo pri celjenju lezij na koži in sluznicah. Mednje sodijo npr. različna mazila, kreme in geli, ki pogosto vsebujejo cinkov oksid. Ta suši izcedek, pospeši celjenje ran in zmanjšuje draženje kože, saj deluje antiseptično, adstringentno in ustvari mehansko bariero, ki ščiti kožo pred škodljivimi zunanjimi vplivi. Tovrstni pripravki lahko vsebujejo tudi lokalne anestetike, ki zmanjšujejo občutke napetosti kože in srbenja na obolelem območju. Ostale sestavine, ki jih lahko poleg že omenjenih vsebujejo pa so še: silicijeva kislina (izsuši mehurček in prepreči bolečino oz. pekoč občutek), propolis (zmanjša bolečino, pospeši celjenje ran), beli vazelin (mehča kožo in prepreči njeno razpokanje, saj deluje okluzivno), idr.. Tehnološka oz. farmakološka oblika, ki je prevladovala v preteklosti je bila pasta, zaradi neestetskega videza po nanosu in drugih pomanjkljivosti pa jo danes nadomeščajo mazila, geli in transdermalne oblike kot so npr. obliži (17). Aspergiloza, ki je glivično obolenje z veliko hujšimi posledicami za dihala kot kožo pa v večini primerov zdravijo z antimikotiki (npr. amfotericin B) in kortikosteroidi.

#### **4.6. Ostali zgodnji in pozni zapleti po alogenski presaditvi KMC**

Zapleti, ki se lahko pojavijo po presaditvi alogenskih KMC so res številni. Že samo visoki odmerki kemoterapevtikov in/ali obsevanja, ki jih uporabljajo za kondicioniranje bolnikov, lahko močno prizadenejo organske sisteme in tkiva ter povzročijo različne zgodnje in pozne zaplete.

Med najpogostejše zgodnje zaplete uvrščajo:

- hemoragični cistitis (vnetje sluznice mehurja),
- zgodnje zaplete vaskularnega izvora (poškodbe žilnega endotelija, sindrom kapilarnega uhajanja, difuzna alveolarna krvavitev, idr.),
- veno-okluzivno bolezen jeter (zlatenica, zadrževanje tekočine in povečanje telesne mase), keratokonjunktivitis oz. vnetje roženice in veznice, ki pa ju ne povzročajo mikroorganizmi, ampak sta posledici pomanjkanja vlaženja površine očesa) - razlogi za to so lahko hormonsko neravnovesje, spremenjena sestava in zmanjšano izločanje solz.

Pozni zapleti po alogenskih presaditvah KMC predstavljajo posebej veliko težavo predvsem pri otrocih in mladostnikih, ki še rastejo in se razvijajo, zato zanje ta način zdravljenja uporabijo le takrat, ko kemoterapija ni uspešna. Najpogostejši pozni zapleti so:

- okvara ščitnice (subklinični hipotiroidizem, očitni hipotiroidizem, primarni ščitnični karcinom),
- okvara funkcije nadledvične žleze,
- gonadna odpoved (pri obeh spolih),
- motnje v rasti (pomanjkanje ravnega hormona),
- pljučne bolezni (restriktivna pljučna bolezen in kronična obstruktivna pljučna bolezen),
- srčne bolezni (postopno srčno popuščanje, aritmije, kardiomiopatije, ipd.), ledvične okvare.

## 5. SKLEP

Presaditve alogenskih KMC kot način zdravljenja različnih bolezni postaja vse bolj razširjen in iskan način terapije. Med analizo 65 primerov tovrstnih presaditev, ki so jih v letih 1991-2012 izvedli na KO za otroško hematologijo in onkologijo, Pediatrične klinike UKC Ljubljana, smo ugotovili, da je koža velikokrat takojšnji pokazatelj nastanka akutne bolezni presadka zoper gostitelja (aGvHD), ki se lahko pojavi po opravljeni presaditvi. Pri tem smo potrdili znano dejstvo, da se aGvHD pogosteje razvije pri tistih bolnikih, ki prejmejo sicer tkivno skladne KMC nesorodnih darovalcev (19 od 39 ali 49%), v primerjavi s tistimi, za katere KMC darujejo tkivno skladni najožji sorodniki (7 od 29 ali 24%).

Kljub temu, da poznamo veliko različnih patoloških kožnih sprememb, ki se razvijejo po presaditvi, za sedaj njihovo zdravljenje, zaradi velike učinkovitosti, še vedno temelji na uporabi kortikosteroidov. Potekajo pa razvoj in preskušanja novih imunosupresivnih zdravil, med katerimi so tudi biološka, vendar do sedaj še nobeno od njih ni izkazalo tako dobrih rezultatov kot kortikosteroidi. Izrednega pomena pri zdravljenju patoloških kožnih sprememb, ki so posledica GvHD, je tudi podporna nega kože. Vsakodnevno je namreč potrebno poskrbeti, da koži vračamo vlago in lipide, ki jih bolnik izgublja, tako zaradi same bolezni kot tudi agresivnega zdravljenja, ki mu je podvržen. Prizadete kože ne smemo dodatno obremenjevati z raznimi dražečimi mili ali dekorativno kozmetiko. Kritično je tudi izpostavljanje soncu, ki ga odsvetujemo že ljudem z zdravo kožo in brez večjih kožnih težav. Bolniki, ki so prestali alogensko presaditev KMC pa se morajo soncu še posebej izogibati ter se ustrezno zaščititi, saj imajo močno okrnjeno zaščitno funkcijo kože, poleg tega pa tudi oslavljen imunski sistem. Znano je namreč, da lahko pri njih sončna opekline sproži nastanek kronične oblike presadka zoper gostitelja (cGvHD).

Kljub temu, da je lahko zdravljenje osnovne bolezni s presaditvijo KMC uspešno, pa se zaradi izrazitih fizičnih in psihičnih obremenitev, ki so jim pri tem izpostavljeni bolniki, pri njih lahko pojavijo številni zgodnji in pozni zapleti, ki prizadenejo kožo in druge organe oz. organske sisteme. Zato poteka na tem področju veliko število raziskav, v okviru katerih skušajo ugotoviti kako bi lahko post-transplantacijske zaplete odpravili ali vsaj omilili. Zanimivo bi bilo podobno raziskavo, kot smo jo izvedli, ponoviti čez deset ali več let in ugotavljati kakšne izboljšave so se pojavile na tem področju. Pri tem se lahko



hipotetično vprašamo: bodo kortikosteroidi še vedno predstavljali zlati standard pri zdravljenju patoloških kožnih sprememb, ki so posledica GvHD?

## 6. LITERATURA

1. Mehta P: Pediatric stem cell transplantation, Jones and Bartlett publishers, Sudbury, Massachusetts, 2004: 3-445.
2. Apperley j, Carreras E, Gluckman E, Gratwohl A, Masszi T: Haemopoietic stem cell transplantation, European school of hematology, Paris, 2004: 11-193.
3. Coppes M, Fry T, Mackall C: Hematopoietic stem cell transplantation- pediatric clinics of north America, Elsevier, Philadelphia, 2010: 27-92.
4. Jazbec J. Presaditev kostnega mozga pri otrocih v Sloveniji. Slov Pediatr 2002; 9(2-3):100-4.
5. Jacobsohn DA: Acute graft-versus-host disease in children, Bone marrow transplantation, 2008; 41: 215-221.
6. Gassas A, Sung L, Dupuis A, Schechter T, Egeler M, Ali M: Acute gut GVHD in children: does skin involvement matter?, Bone marrow transplantation, 2013; 48: 1129-1132.
7. Jacobsohn DA: Optimal management of chronic graft-versus-host disease in children, British Journal of Haematology, 2010; 150: 278-292.
8. [http://www.emedicinehealth.com/hemoglobin\\_levels/article\\_em.htm](http://www.emedicinehealth.com/hemoglobin_levels/article_em.htm). Dostopano: 20.7.2017
9. <http://www.ztm.si/krvodajalstvo/kri-in-krvne-skupine/>. Dostopano: 20.7.2017
10. <https://www.klubintersport.si/files/46670/levkociti.pdf>. Dostopano: 24.7.2017
11. <http://www.educell.si/maticne-celice/krvotvorne-maticne-celice/>. Dostopano : 17.7.2017
12. <http://diagnosticni-laboratorij.si/levkociti/>. Dostopano: 17.7.2017
13. <http://simphealth.com/si/pages/1662040>. Dostopano: 20.7.2017
14. <http://www.ztm.si/terapevtske-storitve/celicne-terapije/presaditev-krvotvornih-maticnih-celic/popkovnicna-kri/>. Dostopano: 24.7.2017
15. [http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/dn\\_suhadolc\\_kristina.pdf](http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/dn_suhadolc_kristina.pdf). Dostopano: 20.7.2017
16. <http://www.ztm.si/uploads/publication/967/985.pdf>. Dostopano dne: 20.7.2017
17. <http://www.nasa-lekarna.si/clanki/clanek/proti-herpesu-ukrepajmo-cim-prej/>. Dostopano dne: 17.7.2017
18. Shenoj SD, Prabhu S. Photochemotherapy (PUVA) in psoriasis and vitiligo. Indian Journal of Dermatology, Venerology and Leprology 2014; 80(6): 497-504.

### 6.1. VIRI SLIK:

1. <https://sl.wikipedia.org/wiki/Makula>. Dostopano: 23.8.2017
2. <http://www.celebslight.club/9547-keywords-lothar-papula/default.htm>. Dostopano: 23.8.2017
3. <https://sl.wikipedia.org/wiki/Rde%C4%8Dke>. Dostopano: 23.8.2017

4. <http://www.e-ijd.org/article.asp?issn=0019-5154;year=2010;volume=55;issue=4;spage=393;epage=396;aulast=Ghosh;type=3>.  
Dostopano: 23.8.2017
5. <http://www.lowedermatology.com/skin-lichenplanus-lichensclerosis/>. Dostopano:  
23.8.2017
6. <http://www.austincc.edu/microbio/2993q/hsv.htm>. Dostopano: 23.8.2017
7. <https://www.pinterest.co.uk/compton0743/neonatal-nursing/>. Dostopano:  
23.8.2017