

CAPITOLUL VIII. TRANSPLANTUL MEDULAR

31. Generalități

Transplantul de celule stem hematopoietice (TCSH) sau Transplantul medular (TM) este o procedură unică în medicină, prin complexitatea și complicațiile ei, reprezentând, pentru multe boli maligne și nonmaligne hematologice, singura metodă terapeutică cu caracter curativ. Astăzi TCSH a devenit un standard de tratament atât pentru malignități hematologice, tulburări congenitale sau dobândite ale sistemului hematopoietic, dar în ultimele două decenii, utilizarea TCSH s-a extins la indicații noi, fiind o opțiune terapeutică în tumori solide, boli autoimune și boli metabolice moștenite. Trendul procedurilor de transplant este în continuă creștere la nivel mondial și procedura de transplant a evoluat mult, în tehnologia sa.

Primele experimente legate de transplantul de măduvă au început în anii 1950, când s-a demonstrat că, la animalele iradiate, hematopoieza poate fi refăcută prin transfuzia măduvei osoase. Încercările de a transpune acest lucru în practica clinică au fost împiedicate de barierele imunologice necunoscute la acea vreme, pe care acum le recunoaștem ca fiind respingere a grefei și boala de grefă contra gazdă (BGcG).

Odată cu descoperirea și înțelegerea sistemului HLA (Human Leucocyte Antigen), în anii 1970, s-au înregistrat progrese clinice rapide, astfel încât TCSH a devenit în curând un tratament standard pentru diferite deficiențe imune și boli maligne. Primul transplant allogeneic de măduvă a fost efectuat în 1957, de către Donnall Thomas.

Numărul de transplanturi în Europa continuă să crească, ajungând la peste 47 000 de TSCH, raportate de centre din 50 de țări în 2018. Din totalul de TCSH, 41% au fost allogeneice și 59% autologe, prin-

cipala indicație fiind malignitățile mieloid (peste 10 000 de cazuri transplantate).

România reprezintă țara cu creșterea cea mai mare a numărului de transplanturi efectuate, în Europa, în raportul EBMT (European Blood and Marrow Transplantation), publicat în 2016.

32. Definiție, tipuri de transplant, indicații

Transplantul de celule stem hematopoietice reprezintă reconstituirea completă a întregului sistem hematopoietic, prin transferul de celule pluripotente prezente în măduva osoasă hematogenă (celule stem). Procedura are în marea majoritate a bolilor, intenție curativă. Indicațiile sunt standardizate și se adresează în special bolilor hemato-oncologice, dar și oncologice, hematologice non-oncologice sau bolilor autoimune.

Transplantul de celule stem hematopoietice folosește tratament chimioterapic în doze mult mai mari decât ar putea fi tolerate în mod normal de către organism (în asociere sau nu cu iradierea totală corporeală), urmat de administrarea celulelor stem cu intenția de a repopula sau înlocui, parțial sau total, sistemul hematopoietic al pacientului. Celulele stem pot fi recoltate de la pacient anterior transplantului (transplant autolog) sau de la o persoană sănătoasă, înrudită sau neînrudită cu pacientul (transplant allogeneic).

Tipurile de transplant de celule stem și principalele diferențe sunt descrise în tabelul 32.1.

Indicațiile standardizate conform ghidurilor internaționale, sunt detaliate în tabelul 32.2 pentru transplantul de celule stem autolog și 32.3 pentru transplantul de celule stem allogeneic.

Tabelul 32.1 Tipuri de transplant de celule stem

<i>Transplant allogeneic</i>	
Definiție	Folosirea pentru transplant de CSH din orice sursă (sânge periferic, măduvă, cordon ombilical) de la un alt individ (membru familial compatibil sau donator voluntar)
Principiu	Corectează hematopoieza defectuoasă +/- imunodeficiență Efect imunoterapeutic pentru cancer Facilitează administrarea de chimioterapie în doză mare Are efect de grefă contra leucemie (GvL).
Avantaje	Nu necesită obligatoriu ca măduva pacientului să fie curată Celulele stem din grefă sunt sănătoase Poate permite folosirea de regimuri de condiționare mai puțin intense
Dezavantaje	Donatorul compatibil poate fi greu de găsit Dezvoltă BGcG Poate apare rejet de grefă Provoacă imunodeficiență mai îndelungată cu risc infecțios
<i>Transplant autolog</i>	
Definiție	Folosirea pentru transplant de CSH proprii
Principiu	Facilitează administrarea de chimioterapie în doză mare
Avantaje	Nu este necesară găsirea unui donator Nu dezvoltă BGcG
Dezavantaje	Grefa proprie poate conține celule tumorale Celulele stem pot fi afectate de chimioterapia precedentă Nu toți pacienții pot mobiliza celule stem periferice Nu beneficiază de efectul GvL.
<i>Transplant syngeneic</i>	
Definiție	Folosirea pentru transplant de CSH de la frate geamăn identic
Principiu	Facilitează administrarea de chimioterapie în doză mare
Avantaje	Nu dezvoltă BGcG
Dezavantaje	Nu beneficiază de efectul GvL

CSH – celule stem hematopoietice, GvL – grea versus leucemie, BGcG – boală grea contra gazdă

Tabelul 32.2 Indicațiile transplantului autolog de celule stem hematopoietice

Limfom Hodgkin	Remisiune parțială (RP) Primar refractar Prima sau altă recădere chimiosensibilă.
LMNH folicular	Refractar la prima linie standard de tratament, chimiosensibilitate la terapia de salvare Prima sau altă recidivă, chimiosensibilă RC2 sau $\geq$ RC2
LMNH cu celulă mare B (DLBCL)	Transformarea în limfom cu grad înalt de malignitate Prima remisiune completă (RC1) cu factori de prognostic negativ la diagnostic (IPI înalt) Remisiune parțială (RP)

	Refractar la prima linie standard de tratament, chimiosensibilitate la terapia de salvare A doua remisiune completă sau mai mult (RC2 sau $\geq$RC2) Prima sau altă recădere, chimiosensibilă
<i>LMNH cu celule de manta</i>	RC1 sau RP RC2 sau $\geq$RC2 sau RP
<i>LMNH cu celule T</i>	RC1 Prima sau altă recădere, chimiosensibilă, dacă nu se poate efectua un allotransplant RC2 sau $\geq$RC2, dacă nu se poate efectua un allotransplant
<i>LMNH Burkitt</i>	RP1 Prima sau următoarea recădere, chimiosensibilă
<i>LMNH limfoplasmocitic (Macroglobulinemie Waldenstrom)</i>	RP1 Refractar la prima linie standard de tratament, chimiosensibilitate la terapia de salvare Prima sau următoarea recădere, chimiosensibilă
<i>LMNH primitive cerebrale</i>	Consolidarea primei RC
<i>LMNH plasmablastic</i>	RC1 Recădere chimiosensibilă
<i>Mielomul multiplu</i>	Mielomul multiplu, după chimioterapia de inducție Mielom multiplu, recădere sensibilă Sindromul POEMS Mielom multiplu recădere după primul transplant autolog Leucemia cu plasmocite
<i>Leucemia acută promielocitară</i>	RC2, BMR -
<i>Tumori solide</i>	Tumori cu celule germinale primar refractare, a doua sau următoarea recădere; linia doua de tratament pentru pacientul cu risc înalt Sarcom Ewing în boala avansată sau metastatică chimiosensibilă Neuroblastom, formele cu risc crescut, consolidare în prima remisiune completă sau remisiune parțială De asemenea, în situații particulare, autotransplantul poate fi indicat și în nefroblastom.
<i>Boli autoimune</i>	Scleroza sistemică Lupus eritematos sistemic, Boala Crohn, Artrita reuma-

toidă, Vasculita, Scleroza multiplă, Polimiozita, Dermato-miozita, Polineuropatia cronică demielinizantă, Neuro-mielita optică. Indicația de autotransplant este la opțiunea clinicianului și se va discuta fiecare caz în parte.

Amiloidoza

Tabelul 32.3 Indicațiile transplantului allogeneic de celule stem hematopoietice

<i>Leucemia acută mieloblastică (LAM)</i>	Eșecul terapiei de inducție (>1 ciclu de chimioterapie de inducție pentru a obține remisiunea completă RC1), la care s-a obținut o remisiune morfologică (<5% blaști în măduva osoasă); LAM secundară (unui tratament anterior, sindrom mielodisplazic, boli mieloproliferative cronice); LAM de novo cu risc intermediar (citogenetic) în prima remisiune completă (RC) are indicație de sibling, indicația de transplant neînrudit sau transplant cu mismatch se va discuta la fiecare caz în parte; LAM de novo cu risc înalt (citogenetic sau molecular) în prima remisiune completă; LAM $\geq$ RC2 sau orice remisiune morfologică după recădere.
<i>Sindrom Mielodisplazic (SMD)</i>	Anemia refractară; Citopenia refractară cu displazie multiliniară; Anemia refractară cu exces de blaști I (AREB I); Anemia refractară cu exces de blaști II (AREB II).
<i>Leucemia mieloidă cronică (LMC)</i>	Prima fază cronică, după eșecul terapiei cu inhibitori de tirozinkinază (TKI) (≥ 2), cu mutație rezistentă (ex T315I) sau cu intoleranță la terapia cu TKI Progresie către faza accelerată sau blastică, după obținerea remisiunii complete morfologice (<5% blaști în MO), cu sau fără boală minimă reziduală (BMR) Determinare extramedulară de boală, cu obținerea remisiunii înainte de transplant
<i>Leucemia acută limfoblastică (LAL) la adulți</i>	LAL fără cromozom Philadelphia în RC1 cu factori de prognostic standard și BMR pozitivă. Se va analiza fiecare dosar în parte LAL fără cromozom Philadelphia în RC1 cu factori de prognostic negativ are indicație standard de sibling sau de neînrudit, pentru transplantul cu mismatch. Se va analiza fiecare dosar în parte LAL cu cromozom Philadelphia în RC1 și BMR negativă are indicație standard de sibling sau de neînrudit, pentru transplantul cu mismatch. Se va analiza fiecare dosar în parte.

	LAL cu cromozom Philadelphia în RC1 și BMR pozitivă LAL $\geq$ RC2 sau oricare orice remisiune morfologică după recădere LAL în RC1:
<i>Leucemia acută limfoblastică (LAL) la copii</i>	Absența RC în ziua 33 - t(4;11) - hipoploidie <44 cromozomi - răspuns nefavorabil la cortizon în ziua 8 + LAL cu celulă T - boală minimă reziduală pozitivă (BMR+) LAL în RC2: - grupa de risc S2+boală minimă reziduală pozitivă - grupa de risc S2+recădere extramedulară (SNC sau testicul) - grupele de risc S3 și S4 LAL în >RC2
<i>Limfoame maligne</i>	Limfoame maligne (Hodgkin sau nonHodgkin) cu recădere chimiosensibilă (răspuns complet sau parțial) după transplant autolog de celule stem hematopoietice, fără determinare masivă de boală (>10 cm diametru) Limfoame primitiv refractare, cu răspuns cel puțin parțial la chimioterapie/ imunoterapie ATLL forma limfomatoasă RC1 sau RC2
<i>Leucemia limfatică cronică</i>	LLC persistentă sau recăzută după chimioterapie care conține Fludarabină și /sau Ibrutinib; boala trebuie să fie chimiosensibilă, fără determinare masivă de boală (>10 cm diametru) și cu <30% limfocite de boală în măduva osoasă Sindromul Richter
<i>Anemia aplastică</i>	Anemia aplastică severă sub 40 de ani Anemia aplastică cu număr absolut de neutrofile <1 000/mm³ și dependență transfuzională, după eșecul imunosupresiei Grupul de prognostic DIPSS intermediar 2 sau mai mare
<i>Mielofibroza idiopatică (Metaplazia mieloidă cu mielofibroză)</i>	Grupul de prognostic DIPSS intermediar 1 cu mutații de risc înalt (ex: ASXL1) MMM care a progresat către leucemie acută; după obținerea remisiunii complete morfologice a leucemiei acute (<5% blaști în MO)
<i>Leucemia mielomonocitară cronică (CMML)</i>	CMML1 sau CMML2 (cu >20% blaști în MO) CMML care a progresat spre o leucemie acută; după obținerea remisiunii complete morfologice a leucemiei acute (<5% blaști în MO)

Leucemia mielo-monocitară cronică juvenilă (JMML)

Mielomul multiplu

Mielomul multiplu cu factori de prognostic nefavorabil del 13, del 17p, t(1;14) sau t(14;16) sau hipodiploidie, cu boală avansată (stadiu ISS ≥ 2) și/sau recădere după transplant autolog de celule stem hematopoietice
Leucemia cu Plasmocite

Sindroame de insuficiență medulară congenitală

Anemia Fanconi dependentă de transfuzii
Anemia Blackfan Diamond dependentă de transfuzii
Diskeratoza congenitală dependentă de transfuzii
Neutropenia severă congenitală infecții severe, recurente
Trombocitopenii congenitale severe

Hemoglobinopatii

Beta talasemia majoră

Imundeficiențe primare

Imunodeficiența combinată severă
Boala cronică granulomatoasă cu infecții severe, frecvente
Hemolinfocitocitoza

- Familială, în prima remisiune completă
- Secundară, în a 2-a remisiune completă

Alte indicații

Boală recăzută la >6 luni de la primul allotransplant și la care s-a obținut remisiune completă; la pacienți sub 60 ani; în absența BGcG semnificative clinic
Eșecul de grefare după transplant
Proasta funcționare a grefei; în absența BGcG semnificative clinic

33. Descrierea procedurii de transplant

Procedura transplantului necesită parcurgerea mai multor etape:

- Selectarea pacientului
- Selectarea donatorului
- Procurarea celulelor stem hematopoietice (recolta de CSH)
- Condiționarea
- Transplantul și grefarea
- Complicațiile posttransplant

➤ **Selectarea pacientului**

Pentru ca TCSH să aibă cele mai bune șanse de reușită pe termen lung, trebuie evaluate două condiții importante:

- Statusul bolii. Remisiunea bolii maligne reprezintă cel mai precis factor de prognostic al supraviețuirii posttransplant, atât autolog cât și allogeneic. Încercările de a transplanta pacienții cu boală malignă avansată, după multiple linii de tratament sunt rareori însoțite de succes, astfel încât indicația de transplant trebuie considerată cât mai precoce.
- Vârsta și comorbiditățile prezente în momentul transplantului. Cu cât vârsta este mai înaintată și pacientul prezintă comorbidități mai multe, cu atât crește mortalitatea nelegată de recădere a pacienților, atât în cazul transplantului autolog cât și allogeneic.

Pacienții care se pregătesc de TCSH trebuie să fie foarte bine informați și sfătuiți de către personal înalt specializat. Fiecare caz trebuie evaluat psihologic și/sau psihiatric pentru a da consimțământul în cunoștință de cauză. Pacientul trebuie evaluat psihiatric pentru depresie semnificativă sau alte afecțiuni psihiatrice care nu pot fi controlate și care se pot agrava în condiții de izolare post procedură de transplant. Pacientul trebuie să fie compliant la manevrele și procedurile medicale. Este necesar ca fiecare pacient să beneficieze de sprijin familial pentru îngrijire atentă în momentul externării. Sunt excluși pacienții cu istoric de nonaderență la tratament.

Următoarele situații pot fi considerate contraindicații ale transplantului de celule stem hematopoietice, fiecare dintre acestea trebuind să fie evaluată complet și corect înainte de transplant:

- Infecțiile: sindromul imunodeficienței dobândite (SIDA), infecții sistemice sau necontrolate, inclusiv sepsis, hepatite virale B, C active în momentul începerii transplantului etc

- Condiții medicale grave care nu pot fi corectate, care limitează statusul de performanță al pacientului (Indice Karnofsky <70%)

- Insuficiență de organ severă sau în stadiu final: diabet zaharat cu leziuni organice severe, boală pulmonară severă ireversibilă, boală hepatică severă ireversibilă, boală renală ireversibilă severă.

- Leziuni ireversibile, grave ale creierului.

- Fumatul activ.

- Starea de graviditate sau test pozitiv pentru beta HCG în cazul pacientelor premenopauză.

- Speranță de viață mică dată de alte afecțiuni decât malignitatea pentru care are indicație de transplant.

- Altă boală malignă activă.

➤ **Selectarea donatorului**

În cazul transplantului autolog, donatorul este pacientul însuși, celulele se recol-

tează și se administrează aceleiași persoane, nu există bariere imunologice între grefon și primitor.

În cazul transplantului allogeneic, selectarea donatorului se face ținând cont de gradul de potrivire HLA. Antigenele HLA sunt codificate de genele complexului major de histocompatibilitate localizate pe brațul scurt al cromozomul 6, gene caracterizate de un mare polimorfism, fiind descrise câteva sute de variante de alele (numerotate cu cifre: ex. HLA-A1, HLA-B27.....) pentru HLA de clasa I și II. Datorită acestei diversități alelice, șansa ca doi indivizi neînruți să aibă același set de alele ale complexului major de histocompatibilitate este foarte redusă.

Specificitatea antigenică a fiecărui locus al complexului major de histocompatibilitate este determinată de prezența unei gene structurale ce codifică o secvență de aminoacizi specifică. Un individ, posedă pentru fiecare locus, două gene structurale, una de proveniență maternă și una de proveniență paternă. Astfel, setul de alele pentru fiecare locus, situat pe unul dintre cromozomii 6 se numește haplotip și se transmite la descendenți în bloc. Homozigoții au pe ambii cromozomi aceeași genă structurală pentru un locus (ex. HLA-A7/A7, HLA-B5/B5....), aceasta corespunzând aceluiași caracter antigenic pentru locusul respectiv. Heterozigoții (majoritatea indivizilor) nu poartă pe ambii cromozomi același tip de alelă (ex. HLA-A7/A9, HLA-B2/B8....), aceasta însemnând că celulele lor vor exprima caractere antigenice moștenite atât de la mamă cât și de la tată. Acest mecanism reprezintă transmiterea codominantă.

Antigenele HLA se grupează în antigene de clasa I (HLA-A, HLA-B, HLA-C) și de clasa II (HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP). Antigenele HLA de clasa I sunt exprimate pe suprafața tuturor celulelor nucleate, cu excepția neuronilor și a fibrelor musculare striate. Antigenele HLA de clasa a doua sunt exprimate numai pe

celulele imune: limfocite B, celulele sistemului monocito-macrofagic, inclusiv celulele prezentatoare de antigen, limfocitele T activate.

Rolul principal al complexului major de histocompatibilitate este acela de a permite recunoșterea antigenului prezentat limfocitelor T. Pentru declanșarea unui răspuns imun celular, este necesar ca celulele stimulatorie și cele care răspund la stimularea antigenică să posede aceleași alele ale complexului major de histocompatibilitate. Limfocitele T helper recunosc antigene cuplate cu molecule HLA de clasa II, în timp ce limfocitele T citotoxice antigene cuplate cu molecule HLA de clasa I.

În cazul allotransplantului medular, alegerea donatorului de celule stem periferice presupune găsirea unui donator HLA compatibil cu primitorul. În momentul în care se testează compatibilitatea în încercarea găsirii unui donator, se testează locusurile HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1, care conține fiecare câte 2 alele, însemnând 10 alele pentru cuplul donator-primitor. Donator compatibil 100% înseamnă compatibilitate pentru toate cele 10 alele. 9 alele din 10 compatibile înseamnă compatibilitate 90%. Cu cât incompatibilitatea este mai mare, cu atât riscul reacțiilor imune posttransplant este mai mare însemnând, în final, riscul de respingere a grefei.

Prima opțiune în alegerea unui donator este un donator înrudit identic HLA. Pentru un pacient cu părinți heterozigoți, existând patru posibilități de combinare a haplotipurilor moștenite de la părinți, șansa de a fi compatibil HLA cu un frate unic este de 25%. Identitate perfectă HLA între frați există în cazul gemenilor monoziigoți, situație în care grea se numește singenică. Pentru evitarea sensibilizării pacientului la antigenele donatorului, în principal când este vorba de donator cunoscut, acesta trebuie exclus din donatorii de preparate de sânge necesare pacientului pretransplant.

În situația în care pacientul nu are frați sau nu există compatibilitate HLA între frați, se recurge la alegerea unui donator neînrudit, compatibil HLA. Pentru testarea compatibilității se efectuează teste de tipizare HLA: inițial se determină antigenele HLA de pe suprafața celulelor donatorului și primitorului (tipizarea serologică), apoi se analizează genele care codifică antigenele HLA (tipizare ADN).

În afara compatibilității HLA, importante în alegerea donatorului sunt:

- Sexul donatorului
- Vârsta
- Compatibilitatea de grup OAB
- Statusul CMV

Ordinea de selecție a donatorului:

1. HLA familial 10/10 (frate/soră) (transplant de la donator înrudit HLA compatibil 10/10)/ singenic (frate/soră univitelini) reprezintă prima alegere;

2. HLA neînrudit 10/10;

3. HLA neînrudit cu mismatch (compatibilitate 9/10);

4. HLA haploidentic (transplant de la donator înrudit cu mismatch, compatibilitate minim 5/10 și mai mică de 9/10) - dacă nu există un HLA familial 10/10 și transplantul are indicație de urgență (ex: într-o lună). Rezultatele cu transplantul haploidentic sunt echivalente cu transplanturile cu HLA neînrudit 10/10. Pentru limfoamele maligne, transplantul haploidentic poate fi o opțiune prioritară, datorită rezultatelor similare sau chiar mai bune (cu rată mai mică de apariție a BGcG) comparativ cu HLA neînrudit 10/10 sau neînrudit 9/10.

Donatorul haploidentic înrudit este o opțiune atunci când:

- pacientul nu are donator sibling
- donatorul sibling nu dorește să doneze
- donatorul sibling are o afecțiune care contraindică donarea
- nu s-a găsit un donator neînrudit după 3 luni de căutare în registrele internaționale
- în condiții de urgență care nu permit căutarea unui donator neînrudit

- în condiții epidemiologice rare

➤ **Procurarea celulelor stem hematopoietice (recolta de CSH)**

Prelevarea de celule stem hematopoietice se poate face numai de la donator viu înrudit sau neînrudit cu pacientul, în cazul procedurii de allotransplant, sau de la pacient în cazul procedurii de auto-transplant.

Sursele de celulele stem hematopoietice sunt măduva osoasă hematogenă (MO), sângele periferic (SP) și sângele de cordon ombilical și placentar.

Inițial, sursa de celule stem utilizată în transplantul autolog și allogeneic a fost măduva osoasă, primul transplant realizându-se în urmă cu peste 50 de ani. Recolta de CSH din MO se realizează prin punctii multiple în crestele iliace posterioare, bilateral, simultan, aspirând în jur de 1 litru de măduvă osoasă, la donatorul aflat în blocul operator sub anestezie generală. Volumul standard de măduvă recoltată, care ar trebui să asigure refacerea hematopoiezei este de 20 ml/kg donor. Riscul de complicații pentru donor este mic și donatorii se refac complet în două săptămâni.

Procedura de prelevare de celule stem hematopoietice periferice (afereza de celule stem hematopoietice) este procedura prin care, cu ajutorul separatoarelor celulare în flux continuu se recoltează celulele stem hematopoietice din sângele periferic (figura 33.1). Recolta de celule stem din sângele periferic reprezintă modalitatea cea mai folosită pentru procurarea de celule stem hematopoietice, la peste 90% din donatori și la aproape 100% din pacienți.

Mobilizarea reprezintă procedura prin care celulele stem sunt mobilizate din măduva osoasă în sângele periferic prin administrarea de factori de creștere hematopoietici singuri sau în combinație cu chimioterapie. Regimul de mobilizare este diferit în funcție de boala de bază, utilizându-se diferite protocoale de chimioterapie asociate cu G-CSF.



Figura 33.1 Separator de celule pentru recoltarea celulelor stem periferice

Regimul standard de mobilizare a celulelor stem la donatorii voluntari alogeni constă în administrarea subcutanată a factorilor de creștere granulocitari în doză de 10-15 $\mu\text{g/kgc/zi}$, cu determinarea numărului de celule stem CD34+ în sângele periferic începând cu ziua 4 de administrare. În ziua în care numărul de celule CD34+ (determinate prin analiza imunofenotipică) depășește $15-20 \times 10^6$ celule CD34+/l, pacientul/donatorul poate fi conectat la aparatul de afereză, în vederea colectării de CSP. La sfârșitul procedurii, care durează în medie 3-4 ore, se dozează numărul de celule CD34+ din grefonul recoltat. Pentru a asigura refacerea hematopoiezei cu celulele din grefon, se consideră că este nevoie de un grefon cu minimul 2×10^6 CD34+/kgc primitor.

Aproximativ 15-18% dintre pacienți eșuează în încercarea inițială de mobilizare a celulelor stem și colectarea a cel puțin $2-2,5 \times 10^6$ celule CD34/kgc. Cel mai important factor de risc pentru o mobilizare inadecvată este tipul și doza de chimio-

terapie mielosupresivă pe care un pacient a primit-o anterior, agenții toxici pentru celula stem fiind Ciclofosfamida, Fludarabina, Melphalan, Lenalidomida. Alți factori de risc asociați cu o mobilizare scăzută sunt: vârsta peste 60 ani, cicluri multiple de chimioterapie anterioară și/sau radioterapie, febra neutropenică din timpul mobilizării, interval scurt între chimioterapie și mobilizare, boli refractare. În cazul eșecului de mobilizare se încearcă remobilizarea pacienților după o perioadă de 3 luni minimum.

Sângele de cordon ombilical a devenit o alternativă la măduva osoasă și sângele periferic, ca sursă de progenitori pentru transplantul de celule stem hematopoietice, încă din 1988 când s-a realizat primul transplant cu celule stem hematopoietice din sânge cordonal de la un donator înrudit, HLA identic, la un copil cu formă severă de anemie Fanconi. Utilizarea sângelui de cordon ombilical ca sursă de celule stem a crescut rapid, datorită câtorva factori favorabili: ușurința colectării, disponibilitate mărită, fără risc la donator, risc scăzut de apariție a efectelor adverse (BGcG acut și cronic, transmitere de infecții) și toleranță crescută la HLA-mismatch. În general, factorul limitativ pentru utilizarea largă a sângelui de cordon pentru transplantul de progenitori hematopoietici este doza celulară. Cantitatea de celule stem în sângele cordonal, măsurată ca și celule nucleate totale (CNT) sau celule CD34+, este mai mică comparativ cu sângele periferic și măduva osoasă, însă acestea au un potențial proliferativ mai mare.

Pe de altă parte, limfocitele T din sângele de cordon ombilical sunt imature funcțional și mai imunotolerante la sistemul imun al gazdei, această proprietate scăzând riscul de BGcG și rejecția de grefon. În ultimii ani, folosirea CSH din sângele cordonal a scăzut foarte mult, pe măsură ce s-a dezvoltat procedura de haplotransplant, astfel încât, la ora actuală

TCSH cu sânge de cordon se efectuează rar, în câteva centre cu tradiție.

CSH prelevate se pot crioprezerva în următoarele situații: la autotransplant, la donatorii care nu pot dona decât la un anumit moment, la donatorii care donează la distanță. Celulele stem prelevate se pot folosi pentru allotransplant și ne-crioprezervate. Prelucrarea și crioprezervarea celulelor stem hematopoietice recoltate se efectuează în Băncile de Celule Stem acreditate de Ministerul Sănătății.

➤ **Condiționarea**

Condiționarea reprezintă protocoalele de chimioterapie combinată (cu sau fără radioterapie inclusă) în vederea pregătirii pacientului pentru transplant de celule stem. Regimul de condiționare este administrat înainte de infuzia propriu-zisă de CSH. Aceste protocoale au trei roluri majore:

- de eradicare a bolii de bază; să distrugă resturile de celule maligne rămase (ex: boli cu RC, dar BMR pozitiv, boli care prezintă încă semne de boală - ex: RP)
- de creare de spațiu pentru celulele care urmează a fi transplantate; oferă posibilitatea celulelor stem ale donatorului să se dezvolte în nișele primitorului
- de a induce imunosupresia pacientului pentru a tolera transplantul celulelor. Să asigure un grad suficient de imunosupresie pentru a asigura grefarea, a evita rejetul de grefă și pentru a preveni BGcG.

Ținând cont de aceste teorii, se consideră că regimurile de condiționare au două ținte:

- mieloablație – vizează distrugerea celulelor stem ale primitorului.
- limfodepleția – vizează depleția sistemului limfoid al primitorului

Anumite medicamente au rol mieloablativ (ex: Busulfan sau Melphalan, TBI), iar altele produc limfodepleție (ex: Fludarabina, Ciclofosfamida).

Curele de condiționare presupun administrarea de medicamente citostatice, care

au efect mieloablativ sau limfodepletor, în zile fixe și în doze fixe (doze calculate în funcție de greutatea și de înălțimea pacientului)

Există mai multe tipuri de condiționări, în funcție de intensitatea acțiunii combinației de citostatice (+/- radioterapie). Regimul de condiționare se efectuează timp de 5-10 zile înainte de transplantul propriu-zis, în funcție de diagnosticul de bază și de statusul clinic al pacientului.

Există trei tipuri de regim de condiționare în funcție de intensitate:

➤ regim mieloablativ: o combinație de agenți de chimioterapie (cu sau fără radioterapie asociată) care odată administrată produce distrugerea completă a hematopoiezei, ducând la o perioadă de aplazie de 2-3 săptămâni, de obicei ireversibilă și fatală, dacă hematopoieza nu este refăcută cu ajutorul celulelor stem transplantate.

➤ regim non-mieloablativ: o combinație de agenți de chimioterapie (cu sau fără radioterapie asociată) care odată administrată produce reducerea fără distrugere completă a hematopoiezei. Aceste regimuri asigură însă o imunosupresie necesară tolerării celulelor primite.

➤ regim de intensitate redusă: combinații de chimioterapice (cu sau fără radioterapie asociată) care se află între categoria mieloablative și non-mieloablative. Aceste regimuri cauzează distrugerii de grade diferite ale hematopoiezei, cu citopenii de grade diferite. Scopul acestor combinații nu este eradicarea bolii ci asigurarea condițiilor imunologice necesare grefării celulelor transplantate. Aceste regimuri fac posibile transplantul la pacienți cu diferite comorbidități, cu intenția de a reduce toxicitatea.

Primele regimuri de condiționare s-au bazat pe principiile intensității de doză, presupunând că administrarea chimioterapiei în doză mare poate elimina celulele tumorale și că reinfuzia grefei poate reconstitui hematopoieza. În bolile maligne, doza de chimioterapie standard este limitată de toxicitatea medulară. Grefa de celule

stem recoltată permite administrarea de doze înalte de chimioterapie asociate sau nu cu radioterapie, capabile de a determina eradicare tumorală în cazul hemopatiilor maligne și al cancerelor cu celule germinale. Astfel, escaladarea dozei de chimio +/- radioterapie este limitată numai de toxicitatea celorlalte organe (plămân, cord, hepatic, renal etc).

Odată cu punerea în evidență a contribuției reacției grefă contra tumoră la succesul procedurii de allotransplant, s-a dezvoltat ideea că nu este indispensabilă o intensitate mieloablativă a regimului de condiționare pentru a eradica boala malignă și din ce în ce mai mulți investigatori au început să scadă dozele de chimio și radioterapie din regimurile de condiționare. Ca urmare a acestui fapt, un număr mult mai mare de pacienți au avut acces la procedura de allotransplant datorită scăderii toxicității regimurilor de condiționare.

În auto TCSH nu se folosește decât regimul MAC, acesta reprezentând singurul principiu terapeutic al acestei proceduri. Folosind celulele proprii ale pacientului, în auto TCSH nu există șansa unei reacții "grefă contra tumoră" ceea ce înseamnă că intensitatea regimului de condiționare este singura care poate distruge celulele tumorale. Regimurile NMA și RIC sunt apanajul exclusiv al transplantului cu celule de la donator voluntar sănătos.

Pe baza analizelor și evaluării clinice și paraclinice complete, pentru fiecare pacient se calculează scorul de comorbidități (HCT-CI). Coroborând vârsta cu scorul HCT-CI și statusul bolii, se alege tipul de condiționare cel mai potrivit.

Exemple de criterii pentru condiționarea cu intensitate redusă (RIC)

- Allotransplant de la donator înrudit sau donator neînrudit cu $HCT-CI \geq 4$
- Allotransplant pentru Leucemie acută mieloblastică peste 55 de ani
- Allotransplant pentru Metaplazia Mieloidă cu Mielofibroză

▪ Allogransplant efectuat după recădere postautotransplant

Cele mai frecvente cure de condiționare, în funcție de tipul de boală, sunt descrise în tabelul 33.1.

➤ **Transplantul și grefarea**

Transplantul propriu-zis al celulelor stem constă din administrarea efectivă intravenoasă a celulelor stem prelevate în etapa anterioară, prin intermediul unui cateter venos central.

Ziua transplantului sau ziua zero, este ziua în care sunt infuzate celulele stem, recoltate și crioprezervate în etapa anterioară. Celulele sunt dezghețate la patul bolnavului și administrate printr-un cateter venos central, în timp scurt, pentru a preveni contactul îndelungat al celulelor stem cu crioprezervantul.

CSH folosite la transplantul autolog sunt întotdeauna crioprezervate și se administrează pacientului după dezgheț, la o perioadă variabilă de timp, care poate dura de la câteva săptămâni la câțiva ani.

Pacientul transplantat necesită îngrijiri speciale până la grefarea celulelor stem și reconstituirea hematopoiezei. Aceste îngrijiri se fac în regim de spitalizare continuă,

în medie 30 zile (14-60) zile în funcție de tipul transplantului, de regimul de condiționare folosit (toxicitatea acestuia) și de complicațiile precoce dezvoltate de pacient. Această perioadă se caracterizează prin necesitatea izolării preventive a pacientului (în rezerve curate, cu aer și apă filtrate) pentru a reduce la minim riscul expunerii la germeni infecțioși. Totodată pacientul trebuie susținut pentru a face față toxicităților și trebuie tratate complicațiile apărute. Din acest motiv pacientul este evaluat periodic cu metode clinice, paraclinice și imagistice. În funcție de situația medicală se va interveni ori de câte ori se impune, cu o varietate largă de proceduri (tratamente, hidratare, substituții, alimentație, îngrijiri specifice etc.). Toate aceste intervenții medicale se desfășoară conform protocoalelor operaționale specifice aferente.

Perioada de pregrefare durează între ziua administrării CSH și grefare (trei zile consecutive cu număr absolut de neutrofile mai mare de $500/\text{mm}^3$). Aceasta se caracterizează printr-o aplazie severă ($L < 100/\text{mm}^3$), care poate dura în medie 10-20 de zile, perioadă în care pacientul primește terapie de profilaxie anti-infecțioasă și de susținere.

Tabelul 33.1 Regimuri de condiționare

Limfoame maligne	BEAM	Carmustina, Etoposide, Citarabina, Melfalan
Mielom multiplu	Mel 200	Melfalan
Leucemia acută	FluBu4, CyTBI	Fludarabina, Busulfan
	FluMel140	Ciclofosfamida, Iradiere corporeală totală
Anemia aplastică	FluCyATG	Fludarabina, Melphalan
		Fludarabina, Ciclofosfamida, ATG

34. Complicații posttransplant

Primele 100 de zile posttransplant reprezintă riscul cel mai mare de complicații. Pe măsură ce ne depărtăm de ziua transplantului, complicațiile se reduc, majoritatea fiind legate de apariția bolii de grefă cronice sau recăderea de boală.

Infecții

Pacienții supuși transplantului de celule stem hematopoietice străbat mai multe perioade de evoluție în care infecția reprezintă riscul major pentru deces. Factorii principali pentru infecții post TCSH sunt: starea bolii hematologice la TCSH, comorbiditățile pacientului, gradul de neutro-

penie, afectarea barierelor anatomice (ex: mucozita), deficitul de limfocite T sau B și tratamentul imunosupresor. Reconstituirea sistemului imunitar după TCSH depinde de tipul de transplant (autolog sau alogeneic), sursa de CSH (maduva osoasă, sânge periferic, sânge din cordon), regimul de condiționare (mieloablativ, intensitate redusă, non-mieloablativ), tipul de profilaxie pentru boala de greață contra gazdă, prezența și gradul de boală de greață contra gazdă și tratamentul acesteia. În funcție de toți acești factori pacientul poate avea un sistem imun deficitar pentru luni sau până la ani post-transplant. Există o relație clară între tipul de imunodeficiență și incidența anumitor infecții, astfel post-transplant pacientul trece prin trei etape diferite de risc. În fiecare etapă există o incidență crescută a anumitor agenți patogeni infecțioși.

În autogrefă, perioada de maxim risc infecțios apare în faza aplazică, fiind determinate de asocierea neutropeniei cu diverse leziuni ale barierelor naturale, leziuni care

constituie în principal porțile de intrare pentru infecția primară, dar și zone de colonizare și focar de infecție locală.

În allogrefă, pe lângă riscul infecțios din faza aplazică, se asociază și riscul infecțios după greață, care este cel mai frecvent cauzat de imunodeficiență și imunosupresie. În perioada de dinainte de greață, pentru a aprecia riscul de apariție al diferitelor tipuri de infecție trebuie să se țină seama de colonizarea bacteriană normală de la nivelul porților de intrare, știut fiind faptul că majoritatea infecțiilor la acești bolnavi sunt cu germeni oportuniști. Acești germeni ai florei normale devin patogeni în condiții de imunosupresie sau neutropenie atunci când își schimbă habitatul și ajung să se dezvolte în alte teritorii ale organismului, care în mod normal sunt sterile (țesuturi sau organe interne).

În funcție de perioada post-transplant există o predispoziție a tipului de microorganism cu care pacientul se poate infecta (tabelul 34.1).

Tabelul 34.1 Riscul de infecții în funcție de fazele transplantului

FAZA	PRE-GREFARE Ziua 0-Ziua +30	POST-GREFARE Ziua +30-Ziua +100	FAZA TARDIVĂ >Ziua +100
Factori de risc	neutropenie severă afectarea barierelor naturale ↓ LyT, ↓ LyB asplenie funcțională	↓ LyT, ↓ LyB asplenie funcțională BGcG acută + tratamentul ei	↓ LyT, ↓ LyB asplenie funcțională BGcG cronică + tratamentul ei
Bacterii	Bacili gram negativi Gram pozitivi		Germeni încapsulați
Fungi	Aspergillus spp. Candida spp.		Pneumocystis jiroveci
Virusuri	Herpes simplex	Citomegalovirus Varicelo-zosterian Epstein-Barr	
	Alte virusuri		

LyT–limfocite T, LyB–limfocite B, BGcG–boală greață contra gazdă

În perioada timpurie (sau perioada de neutropenie ziua 0-ziua +30) factorii de risc cei mai importanți sunt neutropenia, leziunile barierelor naturale, imunodeficiența celulară cât și cea umorală, iar la persoanele care primesc TBI- asplenia. Cele mai comune forme de infecție sunt bacteriemia/sepsisul, pneumonia, orofaringita, sinuzita, proctita și celulita.

În perioada intermediară (definită între ziua +30 și ziua +100 posttransplant) cele mai frecvente cauze predispozante de infecție sunt imunodeficiența, asplenia funcțională la care se adaugă apariția BGcG și medicația imunosupresoare. Riscul de infecții cu bacterii Gram pozitive este scăzut, pe când infecțiile cu microorganisme Gram negative încă se mai pot identifica.

În perioada tardivă (definită după ziua +100 post-transplant) cauzele incriminate pentru apariția infecțiilor sunt severitatea și prezența BGcG cronică ce împiedică refacerea imunității umorale și celulare a pacientului.

Toxicitatea regimurilor de condiționare

Datorită intensității înalte a regimurilor de condiționare, toxicitatea de organ este de asemenea importantă și reprezintă una dintre principalele cauze de morbiditate și mortalitate posttransplant. Evaluarea gradului de toxicitate al regimurilor de condiționare este importantă în stabilirea conduitei terapeutice.

Cele mai frecvente efecte adverse ale condiționării sunt:

- greața, vărsăturile, diareea
- mucozita orofaringiană. Mucozita la nivelul cavității bucale este cea mai frecventă cauză de durere la pacientul aflat în perioada imediată posttransplant. Mucozita severă apare la aproximativ 75% dintre pacienții care primesc condiționare mieloablative. Primele semne ale mucozitei apar de obicei în primele zile postinfuzie de CSH, cu un vârf în zilele 7-10, pentru a se reface odată cu creșterea numărului de leucocite.

- alopecia
- cistita hemoragică
- boala venoocluzivă (sindromul sinusoidal obstructiv)
- pneumonia interstițială

Rejetul de greșă

Reprezintă rejectarea celulelor donatorului, prin mecanism mediat imun, de către celulele efectoare, restante ale receptorului, datorită diferenței genetice între receptor și donator. Pentru a diagnostica rejetul, este nevoie de testarea chimerismului, care să pună în evidență absența hematopoiezei de donator.

Eșecul de greșare

Reprezintă eșecul refacerii hematopoiezei după TCSH autolog sau allogeneic. Dintre factorii predispozanți se numără – număr insuficient de CSH în greșă, grad înalt de HLA mismatch între donator și receptor, antecedente de alloimunizare, diferite infecții etc. Greșă cu CSP are o rată de eșec de greșare de 1-2%, în timp ce greșă cu sânge de cordon are un eșec de greșare de peste 10%.

Boala greșă contra gazdă acută (a BGcG)

Apare de obicei în primele 100 de zile posttransplant, la aprox 30-40% din pacienți, Principalele organe afectate în cadrul BGcG acută sunt reprezentate de piele, tractul gastrointestinal și ficatul. Diagnosticul de BGcG acută poate fi stabilit pe baza semnelor clinice la pacienții ce prezintă erupție cutanată specifică (figura 34.1), crampe abdominale însoțite de diaree și nivele crescute ale bilirubinei serice până la 100 de zile post TCSH. Se recomandă biopsierea organelor afectate în condițiile în care este posibil. Examenul histopatologic reprezintă cea mai sensibilă metodă de diagnostic a BGcG. Diagnosticul diferențial se face cu hepatita virală (VHA, VHB, VHC, VHE, CMV, EBV, Adenovirus), toxicitate medicamentoasă (pentru



Figura 34.1 Reacție grefă contra gazdă acută cutanată

Tabelul 34.2 Stadiile bolii grefă contra gazdă acută

Grad	Cutanat	Hepatic	Digestiv
0	Fără eritem	Bilirubina <2mg/dl	Fără diaree sau Diaree <500 ml diaree/zi
1	Eritem maculopapular pe <25% din suprafața corporală fără alte simptome	Bilirubina 2-3 mg/dl	Diaree 500-1 000 ml/zi Greață și vărsături
2	Eritem maculopapular cu prurit sau alte simptome ce acoperă 25-50% suprafața corporală sau descuamare locală	Bilirubina 3-6 mg/dl	Diaree >1 000-1500 ml/zi Greață și vărsături
3	Eritrodermie generalizată sau erupție maculară, papulară sau veziculară simptomatică cu bule sau descuamare pe ≥50% din s.c.	Bilirubina 6-15 mg/dl	Diaree >1 500ml/zi Greață și vărsături
4	Dermatită exfoliativă generalizată sau dermatită ulcerativă sau leziuni buloase	Bilirubina ≥15 mg/dl	Diaree >2 000 ml/zi sau Crampe abdominale severe +/- ileus

Boala grefă contra gazdă cronică (cr BGcG)

Are manifestări clinice foarte diverse, care se suprapun peste manifestările bo-

afectarea hepatică) și cu toxicitatea întârziată postchimioterapie/infecții/efect advers al medicației pentru afectare digestivă.

Este obligatorie stadializarea corectă înainte de inițierea tratamentului. BGcG acută poate deveni o boală imunologică gravă, cu morbiditate și mortalitate crescută, în stricta corelație cu intensitatea afectării.

Tratamentul este complex, corticoterapie și/sau alte imunosupresoare, tratament adjuvant, modificarea profilaxiei antiinfecțioase.

Asocierile între stadiile afectării diferitelor organe, încadrează BGcG acută în 4 grade (tabelul 34.2), cel mai grav, gradul IV fiind amenințător de viață.

lilor autoimune, ca sclerodermia, dermatomiozita sau lichenul plan. Apare în mod caracteristic după ziua 100 postransplant. Clasificarea și încadrarea într-un grad de

extensie corect se face evaluând toate organele și sistemele, având scor pentru fiecare modificare în parte. Procedul este foarte complex și tratamentul cr BGC este, de obicei, de lungă durată.

Recăderea posttransplant

Reprezintă o complicație gravă după TCSH. O parte din pacienți pot beneficia de tratament cu infuzie de limfocite de la donator, în speranța că se stimulează

astfel, efectul de grefă contra tumoră. O proporție mică pot beneficia de al doilea transplant, dacă malignitatea reintră în remisiune și recăderea apare la distanță de TCSH.

La ora actuală, tratamentul cu CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T cells) arată rezultate promițătoare, asocierea cu transplantul (pre sau post-) fiind considerată o nouă șansă pentru categoria de pacienți cu boli refractare.

Bibliografie

1. Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N. Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies the EBMT Handbook 2019.
2. Duarte RF, Labopin M, Bader P, et al. Indications for haematopoietic stem cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe. *Bone Marrow Transplant* 2019; 54, 1525-1552.
3. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40 000 transplants annually. *Bone Marrow Transplant*. 2016; 51(6):786-792.
4. Passweg, J.R., Baldomero, H., Chabannon, C. et al. The EBMT activity survey on hematopoietic-cell transplantation and cellular therapy 2018: CAR-T's come into focus. *Bone Marrow Transplant* 2020; 55, 1604–1613.
5. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15:825.
6. Recomandările Societății Române de Transplant Medular <https://transplantmedular.ro/ghiduri/>
7. Tănase A et al Autotransplantul de celule stem hematopoietice; principii și indicații, editura TechnoMedia 2015.

