



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Janusz Lange

**Dolnośląskie Centrum Transplantacji Komórkowych z Krajowym Bankiem
Dawców Szpiku we Wrocławiu**

**Związek pomiędzy infekcją i reaktywacją wirusów z rodziny *Herpes* (CMV,
EBV i HHV-6),**

**a różnicowaniem i dojrzewaniem limfocytów
po allogenicznym przeszczepieniu komórek krwiotwórczych**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor:

prof. dr hab. Dariusz Wołowicz

Recenzenci:

prof. dr hab. Kazimierz Kuliczkowski

Kierownik Katedry i Kliniki Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku
Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

dr hab. n. med. Agnieszka Wierzbowska

Klinika Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Wrocław, 14.12.2012r.

Janusz Andrzej Lange urodził się we Wrocławiu 11.05.1970 r. W 1988r. ukończył XIV Liceum Ogólnokształcące we Wrocławiu, a w 1995 roku Wydział Lekarski Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. W latach 1995-1998 był młodszym asystentem w Zakładzie Immunologii Klinicznej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN i jednocześnie odbywał staż podyplomowy w Szpitalu im. K. Dłuskiego we Wrocławiu z Oddziałem Immunoterapii i Przeszczepiania Szpiku jako oddziale macierzystym. Na tym Oddziale też rozpoczął specjalizację z chorób wewnętrznych zakończoną w 1998r. egzaminem specjalizacyjnym I st. oraz w 2003r. egzaminem specjalizacyjnym II st. Od 2002 r. wraz z powstaniem Dolnośląskiego Centrum Transplantacji Komórkowych pracował na Oddziale Chemioterapii Onkologicznej, a następnie na Oddziale Hematologicznym DCTK na stanowisku starszego asystenta. W 2004r. rozpoczął, a w 2008r. zakończył egzaminem specjalizację z Hematologii. Pracę naukową, którą rozpoczął w IITD PAN kontynuował w latach 2005-2006 w Mater Medical Institute uzyskując zatrudnienie jako pracownik naukowy w grupie przeszczepiania szpiku kostnego Szpitala Mater w Brisbane, Australia.

W styczniu 2007 r. rozpoczął przewód doktorski oparty na pracy klinicznej i laboratoryjnej pt.: „Związek pomiędzy infekcją i reaktywacją wirusów z rodziny Herpes (CMV, EBV i HHV-6), a różnicowaniem dojrzewaniem limfocytów po allogenicznym przeszczepieniu komórek krwiotwórczych”.

Jest autorem, oraz współautorem 5 publikacji pełnotekstowych oraz 25 streszczeń z doniesień zjazdowych. Uczestniczył w licznych konferencjach i sympozjach polskich i zagranicznych wygłaszając wiele referatów. Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów oraz Polskiego Towarzystwa Immunogenetycznego. Jest zaangażowany w działalność społeczną w Stowarzyszeniu na Rzecz Rozwoju Dawstwa Szpiku oraz w Fundacji Urszuli Smok Podaruj Życie.

STRESZCZENIE

Wstęp:

Do najistotniejszych zagrożeń pacjentów we wczesnym okresie po allogenicznym przeszczepieniu komórek krwiotwórczych (allo-HSCT) należą zakażenia, w tym infekcje/reaktywacje wirusami rodziny *Herpes*. Związek tych wirusów z poprzyszczepowym niedoborem limfocytów oraz ich poszczególnych subpopulacji jest złożony i nie do końca poznany: z jednej strony opóźnienie rekonstrukcji limfopojezy usposabia do zakażeń wirusowych, z drugiej zaś niektóre wirusy wpływają stymulująco lub supresyjnie na odbudowę układu limfocytowego. W szczególności niektóre dane doświadczalne sugerują negatywny wpływ HHV-6 na czynność limfocytów T, jednak oddziaływanie tego wirusa na odbudowę limfopojezy po allo-HSCT nie zostało dotychczas zbadane.

Cel pracy :

Za cel niniejszych badań postawiono sobie ocenę wczesnego okresu odnowy limfocytowej po allo-HSCT i jej związku z rodzajem leczenia kondycjonującego przeszczepienie, wystąpieniem aGvHD oraz wystąpieniem infekcji/ reaktywacji wybranych wirusów rodziny *Herpes* (CMV, EBV, HHV-6).

Material i metody:

Badaniem zostało objętych 53 pacjentów poddanych allo-HSCT z powodu chorób nowotworowych układu krwiotwórczego (50 osób), wrodzonego złożonego niedoboru odporności (2 osoby) oraz ciężkiej anemii plastycznej (1 pacjent). Dwudziestu ośmiu chorych otrzymało uwarunkowanie mieloablacyjne, a pozostali uwarunkowanie o zredukowanej intensywności. Ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (aGvHD) wystąpiła u 18 pacjentów. Po stwierdzeniu początku odnowy hematopoetycznej, charakteryzującej się osiągnięciem liczby 500 kom./ μ l granulocytów obojętnochłonnych, we krwi obwodowej pacjentów wykonywano 4-krotnie (w odstępie tygodniowym) następujące oznaczenia: ogólna liczba limfocytów, liczba limfocytów B, T, CD4+, CD8+ oraz subpopulacji limfocytów CD4+: komórek naiwnych (NV), centralnych i efektorowych komórek pamięci (CM i EM) oraz komórek końcowo zróżnicowanych (TEMRA). Równocześnie za pomocą techniki Real time-PCR oceniono w komórkach jednojądrowych krwi obwodowej liczbę kopii DNA badanych wirusów.

Wyniki i wnioski:

W omawianym okresie obserwacji wykazano obecność kopii DNA co najmniej jednego z badanych wirusów u 36 (68%) pacjentów, z czego EBV u 22 (41%), HHV-6 u 20 (37%), a CMV u 5 (9%). Najsilniejszy hamujący wpływ na tempo odnowy limfocytowej, określanej bezwzględną liczbą limfocytów w kolejnych oznaczeniach, miało zastosowanie alemtuzumabu w uwarunkowaniu przeszczepienia, w mniejszym zaś stopniu (i jedynie w początkowym okresie odnowy) – wystąpienie aGvHD. Wykazano ponadto, że na początku odnowy hematopoetycznej liczba limfocytów CD4⁺_{NV} była wyższa u pacjentów, którzy otrzymali komórki progenitorowe CD34⁺ w ilości wyższej niż mediana dla całej populacji. U pacjentów, u których w okresie obserwacji wykazano kopie DNA HHV-6, liczba limfocytów T CD4⁺, a zwłaszcza ich subpopulacji CM i EM, była przy końcu okresu obserwacji niższa niż u chorych bez cech infekcji/reaktywacji tego wirusa. W grupie chorych z infekcją/reaktywacją CMV całkowita liczba limfocytów oraz komórek CD4⁺ była na początku obserwacji niższa niż u pacjentów niewykazujących kopii DNA tego wirusa. W ostatnim oznaczeniu liczba limfocytów CD8⁺ była wyższa w grupie, u której stwierdzono kopie DNA CMV, w porównaniu z grupą chorych niewykazujących ich obecności, natomiast liczba komórek CD20⁺ była wyższa u chorych z infekcją/reaktywacją EBV niż u pacjentów niezakażonych tym wirusem.

Uzyskane wyniki wskazują, że najbardziej niekorzystny wpływ na odnowę limfocytową po allo-HSCT ma zastosowanie alemtuzumabu w uwarunkowaniu przeszczepienia. Sprawność tej odnowy natomiast jest większa po podaniu biorcy większej liczby komórek CD34⁺. Z badań wynika również, że infekcja/reaktywacja wirusami CMV i EBV sprzyja ekspansji limfocytów odpowiednio CD8⁺ i CD20⁺, lecz zakażenie HHV-6 upośledza odnowę limfocytów T CD4⁺. Obserwacje te wymagają jednak potwierdzenia na większej grupie pacjentów.