

Pismo uredništvu/Letter to the editor

NACIONALNI PROGRAM PRESAJANJA ALOGENSKIH KRVOTVORNIH MATIČNIH CELIC IN DELOVANJE SLOVENSKEGA REGISTRA PROSTOVOLJNIH NESORODNIH DAROVALCEV KRVOTVORNIH MATIČNIH CELIC, SLOVENIJA-DONOR

NATIONAL PROGRAM FOR HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION AND
FUNCTIONING UNRELATED VOLUNTEER BONE MARROW DONOR REGISTRY
OF SLOVENIA

Miha Tonejc, Matjaž Jeras

Center za tipizacijo tkiv (CTT), Zavod RS za transfuzijsko medicino (ZTM), Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

Ključne besede: *krvotvorne matične celice; presajanje; register Slovenija Donor; transplantacijski center; odvzemni center; darovalci; standardi*

Izveček – Izhodišča. *Presajanje krvotvornih matičnih celic (KMC) se je v zadnjih desetletjih uveljavilo kot najuspešnejši način zdravljenja prej večinoma neozdravljivih bolezni krvotvornih organov, predvsem različnih vrst levkemij.*

Zaključki. *Osnovno merilo za izbiro primerne darovalca KMC je tkivna skladnost oziroma ujemanje v tkivnih antigenih HLA (Human Leukocyte Antigens) s prejemnikom presadka. Najustreznejši darovalec je bolnikov najožji sorodnik – sorojenec (brat, sestra), ki je z njim v omenjenih antigenih genotipsko skladen.*

Ker pa večina bolnikov (~ 75%) med najožjimi družinskimi člani nima ustreznih sorodnih darovalcev, ki so z njim HLA skladni, obstaja v določenih primerih možnost, da le-te poiščemo med prostovoljnimi nesorodnimi osebami, ki so člani posameznih nacionalnih registrov, združenih v svetovni register – Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW). Danes šteje BMDW skoraj 9 milijonov darovalcev. Vanj je vključen tudi slovenski register Slovenija – Donor (SD), ki predstavlja povsem anonimno zbirko fenotipov HLA trenutno 536 slovenskih prostovoljnih nesorodnih darovalcev KMC (NDKMC). Le-ti so se z največjo mero človekoljubnosti zavestno odločili, da bodo, če bodo izbrani, darovali svoje KMC za kateregakoli bolnika, kjerkoli v svetu, ki bi potreboval tovrstno zdravljenje. Delovanje slovenskega registra NDKMC je povsem transparentno in v celoti vpeto v nacionalni in mednarodni program presajanja alogenskih KMC.

Uvod

Leta 1989 so na Hematološkem oddelku Kliničnega Centra (KC) v Ljubljani opravili prvo uspešno avtologno ter prvo uspešno sorodno alogensko presaditev kostnega mozga. Šele konec leta 2002 pa so izvedli tudi prvo transplantacijo KMC prostovoljnega nesorodnega darovalca. Od leta 1989 pa do konca

Key words: *hematopoietic stem cells; transplantation; Registry Slovenia-Donor; transplantation center; collection center; donors; standards*

Abstract – Background. *In the last few decades hematopoietic stem cell (HSC) transplantation has become a successful treatment of choice for severe and otherwise mostly incurable haematological diseases such as various types of leukaemias.*

Conclusions. *The HLA identity of donor and patient is basic criteria for a successful transplantation. Therefore the most suitable donor for a given patient is his or her HLA genotypically identical sibling (brother or sister).*

But because only about 25% of all patients will be lucky enough to have an HLA matched sibling, the national registries of unrelated volunteer donors have been established to provide an alternative and additional source of HSC. Such registries are members of the super-registry Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW) with currently almost 9 million donors. The Slovenian national registry Slovenija-Donor (SD) is a full member of the BMDW, and is currently contributing HLA phenotypes of its 536 members. The functioning of the Slovenian registry is completely transparent and fully harmonized with the national and international allogeneic HSC transplantation programme.

leta 2003 so tako pri nas opravili 115 avtolognih, 106 sorodnih ter 7 nesorodnih alogenskih transplantacij KMC.

Slovenski register Slovenija-Donor smo na pobudo prof. dr. Mateje Bohinjec ustanovili v CTT konec leta 1991. Že leta 1992 je postal polnopravni član svetovnega registra BMDW, v katerem so zbrani podatki o tkivnih oziroma transplantacijskih antigenih HLA NDKMC ter enot popkovnične krvi, ki jih skupaj

prispevajo posamezni nacionalni registri in celične banke. Register BMDW so udeležili v letih 1988–1989 v Leidnu na Nizozemskem. Njegov idejni oče in ustanovitelj je bil prof. dr. Jon van Rood. Vanje trenutno vključenih 53 nacionalnih registrov NDKMC iz 39 ter 35 bank popkovnične krvi iz 21 držav. Po zadnjih podatkih šteje skupaj nekaj manj kot 9 milijonov NDKMC in enot popkovnične krvi.

Nosilci nacionalnega programa presajanja KMC

Nacionalni program transplantacije KMC v Republiki Sloveniji (RS) sooblikujejo naslednje inštitucije: javni zavod Slovenija-transplant, Klinični oddelek za hematologijo KC, Služba za onkologijo in hematologijo v okviru Pediatrične klinike KC Onkološki inštitut, ZTM. Delovanje registra SD je v celoti usklajeno z nacionalnimi zakoni in mednarodnimi standardi.

Nacionalni transplantacijski center (TC)

Nacionalni TC mora izpolnjevati pogoje za pridobitev dovoljenja za zdravljenje bolnikov s presaditvijo alogenskih KMC sorodnih in nesorodnih darovalcev, kar pomeni, da mora med drugim uspešno prestati akreditacijo, ki jo predpisuje in izvaja EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation).

Za izvajanje transplantacijskega programa TC nujno potrebuje storitve laboratorija za ugotavljanje tkivne skladnosti (Center za tipizacijo tkiv), ki mora vsako leto opraviti ustrezno akreditacijo EFI (European Federation of Immunogenetics). Transplantacijski center lahko sproži iskanje NDKMC izključno preko nacionalnega registra NDKMC (SD).

Center za odvzem KMC (CO).

V Sloveniji izvaja klasični odvzem KMC (kostnega mozga) Klinični oddelek za hematologijo KC, zbiranje, čiščenje in shranjevanje KMC iz periferne krvi pa ZTM.

Naloge in dejavnosti registra Slovenija-Donor

Kdo je lahko darovalec KMC

Darovalec je lahko vsakdo, ki se prostovoljno odloči za darovanje svojih KMC za potrebe katerega koli bolnika, kjer koli v svetu in to tudi pisno potrdi. Obvezno mora izpolnjevati naslednje pogoje: biti mora star od 18 do 55 let, popolnoma zdrav, torej brez kroničnih telesnih in/ali duševnih bolezni ter mora v celoti izpolnjevati tudi vse ostale predpisane zahteve, ki veljajo za krvodajalce v RS in so opredeljene v Zakonu o preskrbi s krvjo.

Pristop k možnemu darovalcu

Darovalca moramo na njemu razumljiv način obvezno seznaniti z: indikacijami za presaditev KMC; uspehi in morebitnimi posledicami tovrstnega zdravljenja, zlasti s postopki odvzema KMC in možnimi spremljajočimi zapleti, s sistemom tkivnih antigenov HLA ter imunogenetskimi merili, ki so pogoj za uspešno presaditev, z razlogi za presajanje KMC nesorodnih darovalcev, s postopkom in stroški tipizacije HLA ter iskanja v svetovnem (BMDW) in posameznih nacionalnih registrih NDKMC, pa tudi s pravicami članov registra SD in z načinom uporabe podatkov o njihovih fenotipih HLA. Potem ko je seznanjen z omenjenimi informacijami, mora izpolniti anketo o svojem

zdravstvenem stanju in življenjskih navadah ter se pogovoriti z zdravnikom. Darovalec mora vedno pisno potrditi, da je prebral ves razpoložljivi informativni material o nalezljivih boleznih, ki se lahko prenašajo s presaditvijo KMC, ter prav tako pisno privoliti v odvzem krvnih vzorcev za tipizacijo antigenov HLA in testiranje virusnih in drugih označevalcev. Prav tako mora tudi pisno potrditi, da se strinja z vpisom v register, in sicer do dopolnjene starosti 55 let, ko mu članstvo avtomatično poteče, ter izjavo, da se je za ta svoj korak odločil prostovoljno, zavedajoč se dejstva, da je darovanje KMC anonimno in brezplačno. Na darovalca v nobenem delu postopka ne smemo izvajati nikakršnih pritiskov. Neodtujljiva pravica slehernega darovalca je, da lahko v vsakem trenutku in brez kakršnih koli posledic zanj izstopi iz postopka izbire.

Registracija darovalca

V register SD vpišemo fenotipe tkivnih antigenov HLA darovalcev izključno pod ustrezno šifro ter nato podatke posredujemo tudi v BMDW.

Zagotavljanje anonimnosti in varnosti osebnih podatkov

Osebnosti podatki o darovalcih morajo biti dostopni le najožjemu krogu pooblaščenih in zapriseženih oseb iz registra SD. Vsi podatki, shranjeni na elektronskih medijih, morajo biti ustrezno varovani (gesla, kriptiranje), pisne dokumente ter elektronske kopije pa moramo obvezno hraniti v zaklenjenih železnih omarah. Podatkov, ki so shranjeni v registru, nikoli ne smemo uporabiti v namene, za katere darovalec prej ni dal pisne privolitve.

Zaščita darovalcev

Darovalci vsakič darujejo svoje KMC le za enega bolnika in morajo biti med celotnim postopkom ustrezno zdravstveno zavarovani.

Iskanje NDKMC v registru Slovenija-Donor za bolnike iz tujine

Poizvedbe za bolnike iz drugih držav v nacionalnem registru SD obravnavamo le, če zahteve zanje pošljejo registri, ki so člani BMDW. Celoten postopek iskanja in morebitne izbire NDKMC mora potekati izključno na ravni komunikacije med SD in ustreznim registrom iz tujine. Register Slovenija-Donor je odgovoren za to, da ugotovi, da darovalec ob vsakem nadaljnjem testiranju izpolnjuje vse predpisane pogoje. Register Slovenija-Donor v skladu z naročilom tujega registra naroči tipizacije različnih lokusov HLA razreda I in/ali II v CTT. V večini primerov pa register potem, ko dobi iz tujega registra zahtevo za ustrezno velik vzorec polne krvi izbranega, tkivno skladnega nesorodnega darovalca, ki ga le-ta potrebuje za izvedbo potrditvene tipizacije, sočasno naroči preiskave virusnih označevalcev in krvne skupine AB0 in RhD. Krvni vzorec, kasneje pa še rezultate omenjenih preiskav, SD pošlje v ustrezn register. Če je kateri od označevalcev pozitiven, SD darovalca izloči iz nadaljnega postopka, pooblaščen zdravnik pa ga o rezultatu pisno obvesti ter ga seznaniti s potrebnimi ukrepi. Če tuji register ne sporoči svoje odločitve o dokončni izbiri našega darovalca v roku 90 dni po začetku postopka dokončne izbire, SD ponovno sprosti njegovo rezervacijo. Register SD mora obvezno obvestiti darovalca o odločitvi glede njegove (ne)izbire.

Tkivna skladnost

Register SD pri ugotavljanju tkivne skladnosti dvojice bolnik – darovalec praviloma upošteva lastna merila ali pa uporabi minimalne zahteve, ki jih predpisuje WMDA (World Marrow Do-

nor Association). V določenih primerih mora upoštevati tudi dogovore, sprejete v okviru konzilija TC. Le-ta lahko, odvisno od zahtevnosti vsakega primera posebej, na osnovi strinjanja lečečega zdravnika iz TC ter mnenja strokovnjaka s področja imunogenetike oz. ugotavljanja tkivne skladnosti iz CTT oz. SD, sprejme odločitev o ustreznosti tudi takšnih NDKMC, ki se od bolnika razlikujejo po enem antigenu HLA-A ali redkeje – B. Skoraj vedno pa je ob tem prisotno tudi neujemanje v enem ali obeh antigenih HLA-DP. Bolnike, ki so mlajši od 18 let, konzilij TC KC obravnava posebej, in sicer v dogovoru z lečečim pediatrom hemato-onkologom.

Genska tipizacija HLA-A*, -B*, (Cw*), DRB1* in DQB1* na ravni visoke ločljivosti (4 številke) je pri nas minimalni pogoj za določitev ustrezne tkivne skladnosti med bolnikom in NDKMC. S celičnimi testi, kot je npr. CTLp (Cytotoxic T-Lymphocyte Precursor Frequencies), to je ugotavljanje frekvenc predhodnikov citotoksičnih T limfocitov, pa lahko ocenimo imunogenost morebitnih razlik v antigenih HLA razreda I med bolnikom in izbranim darovalcem KMC *in vitro*.

Postopek iskanja NDKMC za našega bolnika v tujih registrih

Najprej v CTT na osnovi napotnice lečečega zdravnika, specialista hematologa, tipiziramo bolnikovo ožjo in kadar je to smiselno tudi širšo družino, da bi našli ustreznega sorodnega darovalca KMC. Pri tem vedno, kadar je to mogoče (prisotnost obeh staršev) pri bolniku in ostalih družinskih članih, določimo genotipe oz. haplotipe HLA. Kadar na ta način ne najdemo ustreznega darovalca, lahko postopek iskanja NDKMC za posameznega bolnika v registru SD sprožimo in vodimo le, če: od lečečega zdravnika, specialista hematologa, ki ugotovi, da je pri bolniku zdravljenje s presaditvijo KMC indicirano, dobimo ustrezno napotnico; je bolnik seznanjen z zdravljenjem in je nanj pisno privolil ter je uvrščen na čakalno listo TC; rezultati preliminarne iskanja v BMDW obetajo dovolj veliko verjetnost, da bomo zanj našli tkivno skladnega NDKMC; je zagotovljeno plačilo iskanja in zdravljenja s strani zdravstvene zavarovalnice. Poskrbimo tudi za to, da pri bolniku prej izvedemo tipizacijo genskih zapisov DRB1* in DQB1* na ravni visoke ločljivosti.

Rezultat preliminarne iskanja v okviru BMDW je seznam potencialnih darovalcev iz različnih nacionalnih registrov, ki ga pregleda strokovnjak za imunogenetiko oz. ugotavljanje tkivne skladnosti registra SD. Le-ta nato na osnovi svoje ekspertize v izbranem registru naroči dodatne tipizacije, praviloma na visoki stopnji ločljivosti tistih antigenov HLA (običajno DR in DQ), ki so potrebni za ugotovitev minimalne zahtevane tkivne skladnosti dvojice bolnik-darovalec, praviloma na visoki stopnji ločljivosti, in sicer vsakič za 5 do 10 z bolnikom najbolj tkivno skladnih darovalcev naenkrat. Ko v SD prispejejo rezultati naročenih tipizacij HLA, strokovnjak za imunogenetiko oz. ugotavljanje tkivne skladnosti registra SD izbere skladne darovalce in zanje od tujega registra pridobi še podatke o krvnih skupinah AB0 in RhD in virusnih označevalcih. Register SD nato za vsakega bolnika naroči vzorce polne krvi enega ali več izbranih tkivno skladnih darovalcev za potrditvene tipizacije in morebitne funkcijske teste tkivne skladnosti (MLR – reakcije v kulturi pomešanih limfocitov, CTLp). Potrditvene tipizacije bolnika in izbranih darovalcev izvedemo na stopnji visoke ločljivosti na ravni DNK s tehnikami verižne reakcije s polimerazo ob uporabi sekvenčno specifičnih začetnih verig (PCR-SSP) in sekvenciranja (SBT).

Odvzem matičnih celic lahko TC naroči le za takojšnjo transplantacijo in ne za njihovo krioprezervacijo. Iskanje NDKMC lahko zaradi najrazličnejših vzrokov (npr. poslabšanje bolezni ali smrt bolnika) kadar koli prekinemo, o čemer morata TC ali SD nemudoma obvestiti vse vpletene tuje registre.

Priprave na odvzem KMC

Darovalca moramo pred začetkom postopka dokončne izbi-re natančno seznaniti z vsemi nadaljnjimi potrebnimi preiskavami, načini odvzema KMC ter s tem povezanimi tveganji, kakor tudi s predvidenim časom, ki ga bo moral za to porabiti, ter z dejstvom, da ga morda lahko prosijo za darovanje levkocitnega koncentrata (DLI) ali ponovno darovanje KMC za istega bolnika. Darovalec mora pisno potrditi, da je seznanjen s celotnim potekom postopka, še posebej pa, da se zaveda, da lahko bolnik v fazi priprave na presaditev umre, če si darovalec v tem času premisli in odstopi od darovanja KMC. Center za odvzem KMC odgovarja za varnost darovalca ter za pravočasno ugotavljanje vseh bolezni, ki bi se s presaditvijo KMC lahko prenesle na bolnika. Center za odvzem KMC mora SD pravočasno obvestiti o začasnih ali trajnih neprimernosti darovalca. Darovalec, ki v celoti izpolnjuje pogoje za odvzem KMC, mora svojo popolnoma prostovoljno odločitev o darovanju potrditi z lastnoročnim podpisom ustreznega predpisanega obrazca.

Odvzem KMC

Pred klasičnim odvzemom KMC (punkcija ploščatih kosti v predelu medenice) darovalca prej napotimo na odvzem lastne krvi za avtotransfuzijo. Pri tem moramo poskrbeti, da v nobeni fazi postopka ne pride do stika med izbranim darovalcem in bolnikom. Zagotoviti moramo njuno popolno anonimnost, ki jo zahtevajo predpisi. Odvzem KMC opravimo lahko le v primeru upravičenega zdravljenja s presaditvijo KMC. Center za odvzem KMC mora poskrbeti za zagotovitev in potrditev kvalitativnih in kvantitativnih zahtev za odvzete oz. zbrane KMC (celokupno število celic z jedrom, volumen pripravka, mikrobiološka neoporečnost itd.).

Priprava odvzetih KMC za transport

Krvotvorne matične celice moramo odvzeti in shraniti v dve neprodušno zaprti sterilni plastični vrečki, od katerih ima vsaka omogočen aseptičen dostop. Vrečki morata biti obvezno označeni z nalepkama, na katerih so naslednji podatki: naziv pripravka (izvor oz. način odvzema KMC); koda darovalca (nikoli darovalčevi osebni podatki); ime in priimek zdravnika, odgovornega za odvzem, z njegovim čitljivim podpisom; vrsta in količina uporabljenega antikoagulantnega sredstva, prostorina suspenzije odvzetih KMC, datum in ura odvzema, ime in priimek ter koda bolnika; datum in vrsta morebitne predelave oz. obdelave pripravka; temperatura hranjenja ter darovalčeva krvna skupina AB0 in RhD.

Transport odvzetih KMC

V primeru, ko bi v našem CO odvzeli KMC izbranega slovenskega nesorodnega darovalca za bolnika iz tujine, ki bi mu opravili presaditev v njegovem TC, bi za prenos poskrbel pooblaščen kurir omenjenega TC ali pa ustreznega tujega registra, ki je za njegove potrebe vodil postopek iskanja in izbi-re.

Register SD organizira pridobivanje krvnih vzorcev izbranih NDKMC iz tujine ter prenos njihovih KMC v Slovenijo za potrebe naših bolnikov.

Vedno moramo za transport uporabiti posebne, toplotno izolirane čvrste vsebnike, ki preprečujejo poškodbe in morebitno iztekanje vsebine, enako kot pri prenosu krvnih komponent.

Praviloma moramo prenos KMC opraviti na najhitrejši možni način, in sicer tako, da od časa odvzema do presaditve ne mine več kot 24 ur. Celice lahko prevažamo pri sobni temperaturi. V primeru, ko pričakujemo, da bi lahko čas od odvzema do presaditve presegel 24 ur, pa mora biti notranjost vsebnika obvezno ohlajena in vzdrževana na + 4 °C. Transport KMC lahko opravi le za to posebej usposobljeno osebo.

Spremljanje darovalca po opravljenem odvzemu KMC

Po odvzemu KMC mora odgovorni zdravnik CO poskrbeti za dobro počutje in ustrezno zdravstveno stanje darovalca. Če je to potrebno, darovalca ustrezno medicinsko oskrbi. Darovalca nato spremlja do njegove popolne rehabilitacije. Tudi v tem primeru morajo biti vsi postopki zabeleženi na predpisanem obrazcu ter shranjeni v CO.

Morebitni ponovni odvzem KMC pri istem darovalcu

Kadar presaditev ne uspe, lahko darovalca prosimo, da še enkrat daruje KMC za istega bolnika. Pri tem, v primeru relapsa bolnikove bolezni, darovalcu praviloma odvezamemo KMC s postopkom zbiranja iz periferne krvi, v primeru, ko se prvi presadek ni prijel, pa uporabimo klasični odvzem KMC. Preden začnemo s postopkom zbiranja KMC iz periferne krvi, mora darovalec prejeti rekombinantni rastni dejavnik G-CSF (Granulocyte-Colony-Stimulating-Factor).

Darovalca moramo že pred prvim odvzemom KMC obvezno seznaniti z možnostjo ponovnega darovanja. O ponovni transplantaciji KMC istega darovalca pri nas odloča konzilij TC.

Viri

1. Rosenmayr A, Hartwell L, Egeland T, Informed consent – suggested procedures for informed consent for unrelated haematopoietic stem cell donors at various stages of recruitment, donor evaluation, and donor workup. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31: 539–45.
2. Zakon o odvzemu in presaditvi delov človeškega telesa zaradi zdravljenja – ZOPDCT. Uradni list RS, št. 12/11.2.2000: 1569.
3. Pravilnik o načinu delovanja in pogojih za razvoj nacionalnega programa zdravljenja s presaditvijo KMC in načinu delovanja registra nesorodnih dajalcev KMC. Uradni list RS, št. 75/1.8.2003: 11368.
4. Pravilnik o načinu varstva osebnih podatkov dajalcev in prejemnikov delov človeškega telesa zaradi zdravljenja. Uradni list RS, št. 75/1.8.2003: 11369.
5. Hurley C et al. A special report: histocompatibility testing guidelines for hematopoietic stem cell transplantation using volunteer donors, *Tissue Antigens* 1999, 53: 394–406.
6. Pravilnik o postopkih zbiranja, shranjevanja in uporabe KMC. Uradni list RS, št. 104/27.10.2003: 14525.
7. The EBMT Handbook, 2000 revised edition.
8. Cleaver A. Donor work-up and transport of bone marrow – recommendations and requirements for a standardized practice throughout the world from the Donor Registries and Quality Assurance Working Groups of the World Marrow Donor Association (WMDA), *Bone Marrow Transplant* 1997, 20: 621–9.
9. <http://www.worldmarrow.org/>.
10. <http://www.bmdw.org/>.