

Acta Haematologica Polonica

PTHiT

XXVII ZJAZD

POLSKIEGO TOWARZYSTWA

HEMATOLOGÓW I TRANSFUZJOLOGÓW

WARSZAWA, 21–23 września 2017 r.

Zeszyt streszczeń

ACTA HAEMATOLOGICA POLONICA

2017; 48, SUPPL 1



PTH.T

XXVII ZJAZD POLSKIEGO TOWARZYSTWA HEMATOLOGÓW I TRANSFUZJOLOGÓW

WARSZAWA, 21–23 września 2017 r.

ZESZYT STRESZCZEŃ

SPIS TREŚCI

Komitet Naukowy XXVII Zjazdu PTHiT	V
Komitet Organizacyjny XXVII Zjazdu PTHiT	VII
Część I – Streszczenia wykładowców	s1
Część II – Streszczenia uczestników	s15
Część III – Indeks nazwisk pierwszych autorów streszczeń	s223



Redaktor Gościnny:
prof. dr hab. Wiesław W. Jędrzejczak (Warszawa)

Redaktor Naczelny:
prof. dr hab. Krzysztof Giannopoulos (Lublin)

Zastępca Redaktora Naczelnego:
prof. dr hab. Iwona Hus (Lublin)

Sekretarz Redakcji:
dr Agnieszka Karczmarczyk (Lublin)



Komitet Naukowy XXVII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów

Przewodniczący:
Wiesław W. Jędrzejczak (Warszawa)

Członkowie:

Walentyna Balwierz (Kraków)
Grzegorz Basak (Warszawa)
Maria Bieniaszewska (Gdańsk)
Ewa Brojer (Warszawa)
Krzysztof Chojnowski (Łódź)
Alicja Chybicka (Wrocław)
Anna Czyż (Poznań)
Jarosław Czyż (Bydgoszcz)
Andrzej Deptała (Warszawa)
Anna Dmoszyńska (Lublin)
Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek (Warszawa)
Jadwiga Fabijańska-Mitek (Warszawa)
Krzysztof Giannopoulos (Lublin)
Sebastian Giebel (Gliwice)
Lidia Gil (Poznań)
Sebastian Grosicki (Chorzów)
Olga Haus (Bydgoszcz, Wrocław)
Grzegorz Helbig (Katowice)
Andrzej Hellmann (Gdańsk)
Jerzy Hołowiecki (Gliwice)
Iwona Hus (Lublin)
Marek Hus (Lublin)
Krzysztof Jamroziak (Warszawa)
Wojciech Jurczak (Kraków)
Artur Jurczyszyn (Kraków)
Przemysław Juszczynski (Warszawa)
Janusz Kłoczko (Białystok)
Mieczysław Komarnicki (Poznań)
Anna Korycka-Wołowiec (Łódź)
Jerzy Kowalczyk (Lublin)
Małgorzata Krawczyk-Kuliś (Gliwice)
Kazimierz Kulickowski (Wrocław)
Sławomira Kyrz-Krzemień (Katowice)

Andrzej Lange (Wrocław)
Krzysztof Lewandowski (Poznań)
Paweł Łaguna (Warszawa)
Magdalena Łętowska (Warszawa)
Maciej Machaczka (Rzeszów)
Bogusław Machaliński (Szczecin)
Michał Matysiak (Warszawa)
Miroslaw Markiewicz (Katowice)
Jacek Nowak (Warszawa)
Beata Piątkowska-Jakubas (Kraków)
Andrzej Pluta (Rzeszów)
Mariusz Z. Ratajczak (Warszawa; Louisville, USA)
Tadeusz Robak (Łódź)
Piotr Rzepecki (Warszawa)
Tomasz Sacha (Kraków)
Aleksander Skotnicki (Kraków)
Jan Styczyński (Bydgoszcz)
Piotr Smolewski (Łódź)
Tomasz Szczepański (Zabrze)
Jacek Treliński (Łódź)
Tomasz Urasiński (Szczecin)
Jacek Wachowiak (Poznań)
Jan Walewski (Warszawa)
Krzysztof Warzocha (Warszawa)
Agnieszka Wierzbowska (Łódź)
Jerzy Windyga (Warszawa)
Dariusz Wołowiec (Wrocław)
Tomasz Wróbel (Wrocław)
Mariusz Wysocki (Bydgoszcz)
Jan M. Zaucha (Gdynia)
Krystyna Zawilska (Poznań)
Barbara Zdziarska (Szczecin)
Bogna Ziarkiewicz-Wróblewska (Warszawa)

Komitet Organizacyjny XXVII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów

Przewodniczący:

Wiesław W. Jędrzejczak (Warszawa)

Członkowie:

Grzegorz Basak (Warszawa)

Piotr Boguradzki (Warszawa)

Ewa Brojer (Warszawa)

Andrzej Deptała (Warszawa)

Joanna Drozd-Sokołowska (Warszawa)

Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek (Warszawa)

Janusz Hałka (Warszawa)

Paweł Łaguna (Warszawa)

Michał Matysiak (Warszawa)

Dariusz Piotrowski (Warszawa)

Piotr Rzepecki (Warszawa)

Emilian Snarski (Warszawa)

Anna Waszczuk-Gajda (Warszawa)

Barbara Zdziarska (Szczecin)



Część I

STRESZCZENIA WYKŁADOWCÓW

WYKŁAD INAUGURACYJNY

PROGRESS IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA: FROM BIOLOGICAL INSIGHTS TO CLINICAL APPLICATION

Michael Hallek

University of Cologne

Biology: The use of whole exome sequencing and large, annotated clinical CLL databases has allowed describing the genomic landscape in CLL. Recurrent mutational patterns suggest that inflammatory pathways, B-cell receptor signaling and differentiation, Notch signaling, Wnt signaling, DNA damage control, chromatin modification and RNA and ribosomal processing are frequently altered in CLL [1]. In addition, the interaction of CLL cells with their microenvironment is essential for CLL pathogenesis. In knock out models, leukemia associated macrophages (LAM) were shown to be important components of the microenvironment of CLL cells [2]. Even conventional therapeutics such as chemotherapy with alkylators and monoclonal antibodies mediate their effects through compartment restricted interactions with macrophages [3]. Finally, agents supposed to exclusively target B-cell receptor associated kinases such as Lyn or BTK seem to exert essential effects through the modulation of the leukemic microenvironment, since targeted deletions of these kinases reduce the capacity of macrophages to “feed” CLL growth [4].

Prognosis: The clinical course of CLL is highly variable but can be predicted today by a plethora of clinical, biological, genetic and molecular factors [5]. The key challenge is to define a limited number of meaningful tests to predict the prognosis and/or response to treatment with reasonably high reliability. Based on a recent effort to construct a comprehensive prognostic score [6], an international consortium of study groups including the **Polish Adult Leukemia Group** has teamed up to create the **CLL International Prognostic Index (CLL-IPI)** [7]. Data of 3472 treatment-naïve patients from France, Germany, UK, USA and Poland were used, and multivariate analyses were performed using 27 baseline factors and overall survival (OS) as endpoint. Two separate datasets of 838 patients from the Mayo Clinic and 416 from a Scandinavian population-based cohort were added for external validation. Five independent prognostic factors were identified: *TP53* deletion and/or mutation, IGHV mutational status, serum β_2 -microglobulin, clinical stage, and age. Using a weighted grading of the independent factors, a prognostic index was derived separating four risk groups with significantly different OS at five years: low (93.2%), intermediate (79.3%), high (63.3%), and very high risk (23.3%) ($p < 0.001$). These risk groups were confirmed by all validation datasets. The CLL-IPI will allow creating sufficiently homogenous populations of patients at high

risk to be included in trials on innovative drugs, while sparing others from unnecessary therapies.

Therapy: Inspired by some of the above progress in our understanding of the biology of CLL, new therapeutic options have become available. As a consequence, the management of patients with CLL is currently undergoing significant changes. During the last decade the outcome of first-line therapies was markedly improved. It could be demonstrated for the first time that the choice of an initial treatment (by adding CD20 antibodies to chemotherapy) created a survival benefit for young, fit and elderly, unfit CLL patients [8, 9]. These therapies can induce remissions below the level of detection (minimal residual disease negativity) [10, 11] and allow to obtain long-lasting responses without further need of retreatment in a significant subgroup of CLL patients [12]. More recently, with the advent of targeted agents such as ibrutinib [13], idelalisib [14], or venetoclax [15, 16], our therapeutic armamentarium has increased even further. It is now our task to optimize therapeutic combinations to create long-lasting remissions, if not cure for CLL patients. One of these concepts uses sequential, targeted therapies to eradicate residual disease. The treatment intensity is tailored by assessing minimal residual disease [17]. First results obtained by this type of combination therapies have been very promising [18].

References

1. Landau DA et al., *Nature* 526, 525-30 (2015).
2. Reinart N et al., *Blood* 121, 812-21 (2013).
3. Pallasch CP et al., *Cell* 156, 590-602 (2014).
4. Nguyen PH et al., *Cancer Cell* 30, 610-22 (2016).
5. Cramer P, Hallek M, *Nature Reviews Clinical Oncology* 8, 38-47 (2011).
6. Pflug N et al., *Blood* 124, 49-62 (2014).
7. International C. L. L. I. P. I. working group, *Lancet Oncol* 17, 779-90 (2016).
8. Hallek M et al., *Lancet* 376, 1164-74 (2010).
9. Goede V et al., *N Engl J Med* 370, 1101-10 (2014).
10. Kovacs G et al., *J Clin Oncol* (2016).
11. Bottcher S et al., *J Clin Oncol* 30, 980-8 (2012).
12. Fischer K et al., *Blood* 127, 208-15 (2016).
13. Byrd JC et al., *N Engl J Med* 369, 32-42 (2013).
14. Furman RR et al., *N Engl J Med* 370, 997-1007 (2014).
15. Roberts AW et al., *N Engl J Med* 374, 311-22 (2016).
16. Stilgenbauer S et al., *Lancet Oncol* 17, 768-78 (2016).
17. Hallek M, *Blood* 122, 3723-34 (2013).
18. Fischer K et al., *Blood* 129, 2702-5 (2017).

SESJA: CYTOPENIE**NEUTROPENIA IN ADULTS****Jan Palmblad, MD, PhD, Professor Emeritus of Medicine**

Karolinska Institutet, Karolinska Univ. Hospital Huddinge, Stockholm, Sweden

This presentation aims at showing that neutropenias (NP) may be dangerous conditions, not only because of the increased propensity for bacterial and fungal infections, but also that mild and moderate NP may be warning signals for underlying disorders which can be life-threatening (see Andersen et al., J Intern Med 2016; 279: 566-75). The presentation then proposes an algorithm for evaluation a patient with acute or chronic NP (Palmblad et al., Expert Rev Hematol 2016; 9: 479-87).

The background for the study on NP as a warning signal was that NP, defined as an absolute blood neutrophil count (ANC) < 1.5 G/L, may accompany a variety of diseases. However, the clinical significance of neutropenia detected in a routine CBCs is poorly understood. We used a primary care resource, comprising complete blood counts from more than 370 000 individuals. We assessed the association with previously recognized conditions as well as all-cause mortality in the 4 years following the identification of NP. By matching laboratory data with Danish nationwide health registers, risk estimates were assessed. It was found that NP was observed in approximately 1% of all tested individuals and was associated dose-dependently with viral infections, hematological malignancies (but not autoimmune disorders or solid cancers) and mortality, particularly HIV, acute leukemias and myelodysplastic syndromes. Thus, the lower the ANC, the greater the likelihood of these diseases, telling that NP is an ominous sign necessitating careful follow-up.

Given this background, we designed a diagnostic approach for an adult NP patient. The first step is to evaluate the risk for over-whelming infections or treatment of already existing infections. The family history might disclose NP in family members. Such NPs are often caused by genetic variations/mutations, e.g. the benign familial NP (mutation in the GATA-binding domain of the *DARC* gene) and the chronic severe NPs (with mutations in e.g. *ELANE* and *HAX1* genes). Finding those with drug-induced NPs is an essential to prevent further complications and recurrence the NP upon re-exposure to the drug. Excluding other hematological disorders, e.g. MDS, hairy cell leukemia, necessitates a bone marrow examination. Autoimmune NPs include those with antibodies to neutrophil antigens, often located to CD16, as well as the LGL syndromes. We provide here means for the evaluation of a previously unknown NP, suggest a triage, work-up and treatments.

SESJA:**KOMUNIKACJA W HEMATOLOGII****MOŻLIWOŚCI I OGRANICZENIA W KOMUNIKACJI Z PACJENTEM HEMATOLOGICZNYM****Wiesław Skrzyński, Dorota Lazar-Sito**

Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa

Gdy podejmowany jest temat komunikacji, zwłaszcza w tak trudnych chorobach nowotworowych, jak białaczka, szpiczak, chłoniak, zwykle omawia się możliwości, potrzeby i ograniczenia od strony pacjenta i jego sytuacji osobistej, rodzinnej i zawodowej. Oczywiście specyfika leczenia, polegająca na konieczności – w zdecydowanej większości przypadków – wielokrotnej i często długotrwałej hospitalizacji, stwarza od strony pacjenta ogromne możliwości kontaktu z personelem medycznym, zwłaszcza z lekarzem prowadzącym. Potrzeba kontaktu i jego zaawansowania w dużym stopniu zależy od indywidualnych cech osobowości pacjenta, przede wszystkim od jego poziomu intelektualnego, stanu emocjonalnego, umiejętności nawiązywania kontaktu, sposobów radzenia sobie w sytuacjach trudnych i w dużym stopniu dotychczasowych doświadczeń życiowych. Pacjenci są coraz rzadziej odwiedzani, coraz częściej otacza ich pustka zamiast troski. W stanach terminalnych rodzina nie chce słyszeć o zabraniu chorego do domu, ewentualnie o hospicjum, obojętnie jak odległego.

Warto jednak zwrócić uwagę na specyfikę uwarunkowań typowych dla obecnej sytuacji społecznej. Żyjemy w czasach SMS-ów. Wszystko, także komunikacja, ma być proste, wygodne i szybkie. W czasach informatyzacji: coraz więcej czynności wymaga kontaktu z komputerem. Amerykańscy lekarze spędzają tygodniowo przed komputerem 26 godzin. Polscy już niedługo im dorównają.

Ludzie twierdzą, że mają dziesiątki przyjaciół, ale w sytuacji potrzeby kontaktu, gdy jest im źle, nie mają się do kogo odezwać. Najwięcej zaprzyjaźnionych osób mają zwykle w mediach społecznościowych – są to ludzie, których nigdy nie spotkali i nie spotkają.

Problemy komunikacji wirtualnej dotykają w równym stopniu także drugiej strony komunikacji – personelu medycznego.

Największym zagrożeniem jest przepracowanie (dodatkowe zajęcia pozwalają dorobić, narastająca biurokracja, komputery obok papierowych dokumentów, a ilość formalności nieustannie wzrasta) wymuszające konieczność pośpiechu. To bardzo zły doradca. Relacje międzyludzkie z wielu powodów są coraz gorsze albo żadne. Lekarze nie rozmawiają ze sobą – poza zdawkową koniecznością – ani o sprawach osobistych, społecznych, ani zawodowych. Największym „metawirusem” zagrażającym samopoczuciu personelu lekarskiego

jest samotność. Jej zasadniczym objawem jest zanik ludzkich kontaktów. Współpracownicy się nawzajem nie słuchają, nie mają czasu ani potrzeby na rozmowę. Ciągły wzrost procedur powoduje, że znaczenie mistrza i szefa staje się coraz mniej istotne, a nawet coraz mniej potrzebne.

Skutkiem bezpośrednim już jest i w większym stopniu będzie poczucie niedowartościowania, zmęczenia i wypalenia. Końcowym efektem, który przeżywa już znacząca część personelu medycznego, jest poczucie bezsensu nie tylko własnej pracy, lecz także wybranego tak trudnego zawodu i niestety w efekcie – sensu własnego życia.

A może mimo to dobra komunikacja i współpraca w leczeniu są możliwe?

ROZMOWY HEMATOLOGA Z TZW. TRUDNYM PACJENTEM

Kazimierz Sułek, Wiesław Skrzyński

Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa

Do gabinetu wchodzi pacjent. Jest zdenerwowany, roszczeniowy, zły. Przeszukał połowę Internetu, a tak mało rozumie. W ręku trzyma kartki papieru. Oczekuje konkretów – liczb, oceny szans, obietnic. Zadaje pytania, serie pytań, na które nie ma odpowiedzi, ale on tego nie przyjmuje, nie chce słyszeć, że: „zobaczmy, jak zareaguje na leczenie”, że trzeba dodatkowych badań, zmiany nawyków. I czasu. Jest tego dnia jednym z dziesiątków pacjentów. A sterta papierów rośnie. Ale tego też nie rozumie. Dla niego liczy się tylko on. I otwiera się szufladka z napisem „Trudny pacjent”.

W gabinecie siedzi lekarz. W oczach społeczeństwa należy do świata personelu medycznego. Jest przedstawicielem administracji, urzędnikiem wpisanym w społeczną służbę, mającym wypełnić przeznaczone dla niego zadania, zgodnie z narzuconymi ogólnie procedurami. Po to do niego przychodzą. Każdego dnia tłumy pacjentów. A on nie ma czasu, unika kontaktu wzrokowego, nie odpowiada na pytania, bywa arogancki, apodyktyczny. Wiele pytań zbywa jakimś: „zobaczmy”, „trudno powiedzieć”, „trzeba czasu”, albo odpowiada żargonem medycznym, który rozumie chyba tylko on sam. Lekarz także bywa trudny.

A tak naprawdę to nie lekarz jest trudny i nie pacjent. Trudna jest relacja pacjent–lekarz. Trudna i asymetryczna, a przecież determinuje proces diagnozy i leczenia. Spotykają się więc dwie osoby, dwa wyjątkowe światy. Dwa różne zbiory cech genetycznych, doświadczeń, uwarunkowań rodzinnych, zainteresowań, przekonań, emocji. Człowiek – pacjent i człowiek – lekarz.

Pacjent jest zły nie na lekarza, a na chorobę. Na to, że przyszła nie w porę, że dotknęła akurat jego, że zaskoczyła, że jest trudna i śmiertelna. Lekarz doświadcza

złości pacjenta, nie wiedząc, że tak naprawdę styka się z ogromem żalu i lęku człowieka o to, co będzie z nim i jego najbliższymi.

Z lęku bierze się poszukiwanie wyjścia, czytanie forów internetowych, wizyty u znachorów i zielarzy. Z lęku, niezgody i ogromnej woli życia.

Człowiek z diagnozą hematologiczną nie chce wierzyć, że to tak wielkie zagrożenie, nie dopuszcza do siebie myśli, że może nie dożyć wesela wnuczki, raczej nie zwiedzi połowy świata, nie spełni marzeń. Nie chce zostawić rodziny, nie chce bać się o jutro, nie chce czuć bólu, być ciężarem dla kogoś, umierać w samotności.

Diagnoza hematologiczna – szpiczak, białaczka, chłoniak – brzmi jak jakiś koszmarny sen. Jest niejasna, niejednoznacznie zlokalizowana, jest jak wróg, który czai się wszędzie i nigdzie. Lekarz w takim koszmarze jest dla pacjenta dobrym duchem, aniołem stróżem, gotowym do przeprowadzenia na jaśniejszą stronę życia. Lekarz wie, co to znaczy ten szpiczak, chłoniak, ta białaczka. Wie, jakie leczenie będzie najskuteczniejsze, jak się po nim czują pacjenci, czy cierpią, czy jest się czego bać. Wie także, jakie zabiegi będą konieczne i na czym będą polegały, czy będą w znieczuleniu ogólnym, miejscowym czy bez, czy rodzina może być przy pacjencie i jakoś pomóc.

Kiedy więc LEKARZ pozostaje CZŁOWIEKIEM, pacjent może być po prostu PACJENTEM. A wszelkie trudne przymiotniki są wtedy zbędne.

SESJA: SESJA MŁODYCH HEMATOLOGÓW

MOŻLIWOŚCI ROZWOJU ZAWODOWEGO I NAUKOWEGO MŁODYCH HEMATOONKOLOGÓW W POLSCE I NA ŚWIECIE

Przemysław Juszczynski

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wybór drogi zawodowego i naukowego rozwoju jest problemem, przed jakim staje każdy absolwent wydziałów lekarskich uczelni medycznych. Droga rozwoju zawodowego jest dość ściśle uregulowana przez przepisy prawa określające tryb kształcenia specjalizacyjnego. Rozwój naukowy nie podlega takim regulacjom, oczywiście poza ustawowymi wymogami w naukowych postępowaniach awansowych, zatem przez osobiste wybory możemy mieć ogromny wpływ na jego przebieg i na miejsce, w które nas obrona droga zaprowadzi. W praktyce droga rozwoju zawodowego (specjalizacja) i naukowego biegną często równolegle, co przy rozsądnym ich zaplanowaniu może zapobiec kolizjom i stanowić wartość dodaną.

Wkraczając na tę naukową drogę, młody człowiek, który rozpoczyna karierę, powinien ją dobrze zapla-

nować i konsekwentnie realizować swój plan, dlatego pierwszą zasadą jest wyznaczenie sobie naukowych celów. Planowanie kariery akademickiej wymaga przedsięwzięcia innych środków niż planowanie kariery czysto klinicznej lub np. w przemyśle. Udzielenie sobie odpowiedzi na pytania o swój naukowy cel jest wyjątkowo trudne na początku kariery, ponieważ wyobrażenia często odbiegają od rzeczywistości. Zadanie to może jednak być łatwiejsze dzięki wczesnemu rozpoczęciu pracy naukowej, najlepiej już w trakcie studiów i przy pomocy wybranego mentora – zatem kolejną zasadą jest wybór mentora. Mentor będący rozpoznawanym na świecie naukowcem, z licznymi kontaktami w dobrych światowych ośrodkach, a zarazem życzliwy i zaangażowany opiekun i doradca w naukowych wyborach życiowych ma kapitalne znaczenie w rozwoju młodego człowieka. To jeden z najważniejszych wyborów, którego nie należy zostawiać przypadkowi. Wielu laureatów Nagrody Nobla praktykowało w przeszłości w laboratoriach kierowanych przez wcześniejszych laureatów tej nagrody. Z tej zasady płynie kolejna – zasada mobilności i gotowości do zmiany miejsca pracy, w tym wyjazdów zagranicznych. Mobilność, współpraca i interakcje z ośrodkami ze świata są fundamentalną zasadą rozwoju naukowego już od czasów starożytnych.

Planowanie drogi naukowej wcześniej, przy udziale mentora i z uwzględnieniem staży zagranicznych wymaga wielu nakładów, w tym także finansowych. Środki prowadzące do realizacji wybranych celów są dziś dużo bardziej dostępne niż dawniej, włącznie z możliwościami odbywania staży naukowych za granicą w ramach programów stypendialnych i grantowych, których zarys zostanie przedstawiony w trakcie spotkania.

AKTUALNIE REALIZOWANE PROJEKTY W RAMACH KLUBU MŁODEGO HEMATOLOGA

Bartosz Puła

Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Klub Młodego Hematologa powstał w 2010 r. jako inicjatywa młodych lekarzy i naukowców zainteresowanych hematologią. Skupia osoby chcące realizować projekty badawcze w dziedzinie hematologii w Polsce oraz pragnące rozwijać się zawodowo. Wśród członków są osoby, które wróciły do Polski z wiodących w hematologii instytutów naukowych Stanów Zjednoczonych Ameryki Północnej oraz Europy Zachodniej, kontynuując swoją działalność naukową w kraju oraz dzieląc się swoim doświadczeniem klinicznym i naukowym.

Celem działalności Klubu jest integracja środowiska dynamicznych osób z całej Polski chcących współpracować przy realizacji projektów związanych z hema-

tologią. W ramach Klubu działają grupy tematyczne skupiające swoją działalność naukową na chorych na rozrostowe choroby hematologiczne wywodzące się z układu chłonnego oraz mieloidalnego.

Aktualnie w ramach Klubu Młodego Hematologa prowadzonych jest kilka projektów naukowych, z których najbardziej zaawansowane dotyczą przewlekłej białaczki limfocytowej, m.in. ocena genetycznych i immunologicznych czynników rokowniczych i predykcyjnych odpowiedzi na leczenie (badanie wielośrodkowe z centralnym bankowaniem próbek) oraz ocena częstości występowania mutacji genu *TP53* w polskiej populacji chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową. Ponadto podejmowane są również próby standaryzacji cytometrycznej oceny choroby resztkowej u chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową (etap wstępny w 6 polskich ośrodkach). Dodatkowo prowadzone są mniejsze pilotażowe projekty w zakresie nauk podstawowych oraz retrospektywne obserwacje kliniczne.

Słowa kluczowe: projekt badawczy, obserwacja kliniczna, nauki podstawowe.

SESJA: HISTORIA HEMATOLOGII

TADEUSZ TEMPKA (1885–1974) – TWÓRCA NAJPRĘŻNIEJSZEGO W POLSCE OŚRODKA HEMATOLOGII KLINICZNEJ W KRAKOWIE

Aleksander Skotnicki

Kraków

Studia medyczne ukończył na UJ w latach 1904–1909, doktor wszech nauk lekarskich od 1911 r., doktor chorób wewnętrznych UJ od 1924 r., prof. nadzwyczajny UJ od 1928 r., prof. zwyczajny UJ od 1946 r. W latach 1919–1939 był początkowo asystentem, potem docentem, a od 1928 r. kierownikiem I Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych UJ.

Po wojnie, w latach 1947–1962, był kierownikiem II Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych UJ, a potem AM w Krakowie (1950–1962). W kierowanych przez siebie klinikach wprowadził najnowsze metody badań laboratoryjnych, w tym immunohematologicznych, cytochemicznych, koagulologicznych, tromboelastograficznych oraz mikroskopii fazowo-kontrastowej i fluororecencyjnej.

Wprowadził na stałe do polskich klinik metodę Arinkina badania przeżyciowego szpiku kostnego z mostka oraz opisał jako pierwszy na świecie razem ze swoim asystentem Braunem tzw. pałeczki olbrzymie – Tempki-Brauna – w przebiegu anemii złośliwej. Choroba ta była jednym z głównych zainteresowań Tempki. Dowiódł, że terapia preparatami wątroby (hepatoterapia) zmniejsza patologiczną hemolizę erytrocytów. Na podstawie biopsji szpiku wykazał, że niedokrwistość złośliwa jest panmielopatią.

Stwierdził występowanie czynnika wewnętrznego Castle'a w śliniankach i przechodzenie go do śliny.

Opisał szczegółowo chorobę Werlhofa, czyli małopłytkowość samoistną, jako zespół wzmożonej trombocytolizy, a więc chorobę o podłożu autoimmunologicznym. Opracował naukowo krynickie źródła mineralne, będące jednymi z najbogatszych w żelazo wód zdrojowych w Europie.

Opisał zasady stosowania mikroskopii fazowej w pracy kliniczno-badawczej, zwłaszcza w zakresie cytomorfologii komórek krwi i komórek nowotworowych.

Podał oryginalny podział niedokrwistości oraz określił zespół objawów niedokrwistości złośliwej występujący w różnych chorobach jako akastlozy.

W czasie niemieckiej okupacji Krakowa 6 listopada 1939 r. podczas słynnej Sonderaktion Krakau został podstępnie aresztowany i wywieziony do obozu koncentracyjnego w Sachsenhausen razem ze 180 innymi profesorami UJ (miał wówczas 54 lata). Zwolniony po wielu interwencjach naukowców z całej Europy wrócił do Krakowa i wziął aktywny udział w konspiracyjnym nauczaniu medycyny.

Był autorem dwutomowej monografii pt. „Choroby układu krwiotwórczego” wydanej przez PZWL w 1950 r. przy pomocy rządu szwedzkiego.

u chorych z białaczkami. W 1955 r. wydał monografię pt. „Mikroskopia elektronowa komórek krwi”.

W latach 60. zainicjował badania epidemiologiczne związane z nierównomiernym występowaniem białaczek zarówno w Polsce, jak i w innych krajach, poszukując środowiskowych czynników leukozogennych.

W latach 70., doceniając homeostatyczną rolę układu immunologicznego oraz nadrzędną funkcję grasicy w rozwoju ontogenetycznym, podjął próby tymoterapii przeszczepem grasic pochodzących od chorych z *myasthenia gravis*, a następnie podając wyciąg z grasic cięjących (TFX) chorym z niedoborami immunologicznymi i aplazją szpiku.

Julian Aleksandrowicz był autorem pierwszego polskiego podręcznika hematologii pt. „Schorzenia narządów krwiotwórczych”, wydanego w 1946 r., a następnie wielu monografii poświęconych patogenecie, diagnostyce oraz terapii chorych z białaczkami, wydawanych przez PZWL.

Był orędownikiem wartości humanistycznych i holistycznych we współczesnej medycynie, a więc wieloczynnikowej patogenecie chorób i całościowego leczenia wg zasady Hipokratesa „nic, co może wpłynąć na zdrowie mego pacjenta, nie będzie mi obojętne”.

PROFESOR JULIAN ALEKSANDROWICZ

Aleksander Skotnicki

Kraków

Profesor Julian Aleksandrowicz (1908–1988) był kontynuatorem krakowskiej szkoły hematologicznej tworzonej przez prof. Tadeusza Tempkę.

Pełnił funkcję kierownika Kliniki przez prawie 30 lat (1950–1978) – była to najpierw III Klinika Chorób Wewnętrznych o profilu hematologicznym, a od 1970 r. – Klinika Hematologii. Był współtwórcą Polskiego Towarzystwa Hematologicznego i organizatorem jego pierwszego Zjazdu w Krakowie w 1950 r. W 1957 r. założył i redagował jedyne wówczas w Polsce czasopismo hematologiczne „Haematologica Cracoviensia”, przemianowane dwa lata później w „Haematologica Polonica”.

W 1948 r. u 44-letniego górnika, przodownika pracy Wincentego Pstrowskiego – chorego na ostrą białaczkę – przeprowadził całkowitą wymianę krwi *exsanguino transfusion* jako próbę eradykacji komórek nowotworowych.

Pod koniec lat 40. stworzył tzw. neounitarystyczną teorię hematopoezy, udowadniając pochodzenie wszystkich komórek krwi z jednego prekursora, którego dziś określamy jako macierzystą komórkę szpiku. W 1958 r. przeprowadził jeden z pierwszych na świecie zabiegów syngenicznej transplantacji szpiku u chorej z CML od jej bliźniaczki siostry.

W latach 50. podjął badania z zakresu biologii molekularnej dotyczące charakterystyki metabolizmu RNA-azy

SESJA: TRANSFUZJOLOGIA 2 – IMMUNOLOGIA TRANSFUZJOLOGICZNA

A DATABASE FOR IN-DEPTH ANALYSIS OF THE EXTENSIVE VARIATION IN 36 BLOOD GROUP SYSTEMS IN THE 1000 GENOMES PROJECT

Mattias Möller, Martin L. Olsson

Division of Hematology and Transfusion Medicine,
Department of Laboratory Medicine, Lund University, Lund,
Sweden

Blood group genotyping has recently developed into a clinical tool to improve compatibility of blood transfusions and management of pregnancies. Next-generation sequencing (NGS) is rapidly moving toward routine practice for patient and donor typing and has the potential to remedy some of the limitations of currently used platforms. However, a large-scale investigation into the blood group genotypes obtained by NGS in a multi-ethnic cohort was lacking. The 1000 Genomes Project provides information on genome variation among 2504 individuals representing 26 populations worldwide. We extracted their NGS data for all 36 blood group systems to a custom-designed database. In total, 210 412 alleles from 43 blood group-related genes were imported and curated. Matching algorithms were developed to compare them to blood group variants identified to date. Of the 1241 non-synonymous variants identified in

the coding regions, 241 are known blood group polymorphisms. Interestingly, 357 of the remaining 1000 variants are predicted to occur on extracellular portions of 31 different blood-group-carrying proteins and some may represent undiscovered or altered antigens. Intriguingly, the *ABO/GBGT1/FUT2/FUT3* and *GYPB/GYPC* genes showed the highest degree of variation per kilobase coding sequence, and *ACKR1* variants had the most skewed distribution across 5 continental superpopulations in the dataset. These genes have been implicated as susceptibility markers and pathogen receptors, e.g. in infectious diseases like malaria, HIV and gastroenteritis.

When looking closer at the *ABO* alleles in the dataset, we noted a 5,821-bp deletion encompassing exons 5-7 in twenty individuals, predominantly Africans. This allele was confirmed and its exact deletion point defined by bioinformatic analyses and *in vitro* experiments. Screening of an independent cohort of African samples revealed three more donors heterozygous for this deletion, which was thereby phenotypically established as an *O* allele. Thus, a previously uncharacterized *ABO* deletion among Africans was comprehensively mapped and a genotyping strategy devised.

In summary, these results from the 1000 Genomes project were exported to an online search engine, www.erythrogene.com, which presents data according to the allele nomenclature developed for clinical reporting by the International Society of Blood Transfusion (ISBT). This database deepens our knowledge on blood group polymorphism globally and provides a long-sought platform available for all clinical and research laboratories.

IMMUNOHEMATOLOGICAL ISSUES IN ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY – INDUCED PREGNANCY

Jill R. Storry

Clinical Immunology and Transfusion Medicine, Region Skåne, Lund

Assisted reproductive technology (ART) is a well-accepted therapy in many countries for childless women who are unable to conceive. In general, ART procedures involve surgically removing eggs from a woman's ovaries, combining them with sperm in the laboratory, and returning them to the woman's body or donating them to another woman (<https://www.cdc.gov/art/whatis.html>), and it is in the latter scenario that unexpected immunohematological problems have been encountered. A review of the literature reveals examples of hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) and fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT) due to antibodies produced by the surrogate mother. Unlike classic HDFN and FNAIT, where the fe-

tus always carries the target antigen as a "single dose", fetuses carried by surrogate mothers maybe homozygous for target polymorphism and thus express a "double dose" of the antigen, putting them at increased risk of disease. Despite acceptance of ART as a medically sound therapy, there remain social issues surrounding ART that may result in delayed treatment for babies at risk as obstetric history can be difficult to obtain. As laboratorians, it is important to consider ART in cases where apparent "non-maternity" is shown.

ZASTOSOWANIE CYTOMETRII PRZEPŁYWOWEJ W BADANIACH IMMUNOHEMATOLOGICZNYCH KRWINEK CZERWONYCH

dr hab. Jadwiga Fabijańska-Mitek,
dr Anna Stachurska

Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego
w Warszawie

Wstęp: Cytometria przepływowa (*flow cytometry* – FC) jest techniką stosowaną w badaniach naukowych i w diagnostyce laboratoryjnej, szczególnie hematologicznej, do fenotypowania komórek chłoniakowych i białaczkowych, komórek krwiotwórczych w materiale przeszczepowym, granulocytów we wrodzonej i nabytej neutropenii oraz w nocnej napadowej hemoglobinurii (NNH). W NNH oraz w sferocytozie wrodzonej bada się też rutynowo zmiany w białkach błonowych erytrocytów (CD59 i CD55, prążek 3 – test EMA).

Cel: Popularyzowanie zastosowań FC w immunologii transfuzjologicznej.

Materiał i metody: Ocena przecieku płodowo-matczynego (*feto-maternal haemorrhage* – FMH): stosując przeciwciała anty-D, -HbF (hemoglobina płodowa), -CA (*carbonic anhydrase*), można w próbce krwi matki wykryć krwinki płodowe RhD+, HbF+, CA–, gdy matka jest RhD– oraz HbF– i CA+. Badania umożliwiają dobór odpowiedniej dawki Ig anty-D w profilaktyce konfliktu RhD, pozwalają wykryć przyczynę niedokrwistości płodu, gdy objętość FMH jest duża, lub szukać innych przyczyn, kiedy nie występuje. Erytrofagocytoza: jeżeli ze względu na swoistość przeciwciał odpowiednie krwinki do transfuzji są niedostępne, to opłaszczą się dostępne krwinki tymi przeciwciałami i ocenia się fagocytozę przez monocyty biorcy. Zazwyczaj stosuje się test mikroskopowy, trudny do przeprowadzenia i subiektywny. Znakowanie CD14 monocytów i CD235a erytrocytów pozwala uwidocznnić na cytogramach krwinki, które oddziałują ze sobą, i ocenić fagocytozę łatwo i obiektywnie. Ekspresja antygenów krwinek czerwonych: jej miarą jest intensywność fluorescencji odpowiadająca liczbie determinant antygenowych, z którymi reagują przeciwciała. Można ocenić antygeny grupowe lub

cząstki różnicowania CD. Można śledzić zmiany wybranych CD, istotnych dla podstawowych funkcji krwinek czerwonych oraz ich żywotności, np. w trakcie przechowywania KKCz. Mikrocząstki: Badając zmiany erytrocytów podczas przechowywania, można wykrywać uwalniane z nich mikrocząstki o określonej wielkości oraz z charakterystycznym markerem CD235a. Oporność osmotyczna: Ta cecha oraz jej pomiar nie należą do reakcji immunologicznych, jednak w immunohematologii większość badań ma na celu szukanie przyczyn hemolizy. Możliwość jej nowoczesnego pomiaru za pomocą FC wspomaga różnicowanie anemii hemolitycznych immunologicznych od nieimmunologicznych i wrodzonych.

Wyniki i wnioski: Cytometrię przepływową powinno się stosować w badaniach immunohematologicznych krwinek czerwonych w szerszym zakresie niż dotychczas.

UPOWSZECHNIENIE BADAŃ W KIERUNKU ALLOIMMUNOLOGICZNEJ MAŁOPŁYTKOWOŚCI PŁODÓW I NOWORODKÓW WYZWANIEM DLA PIONU KRWIODAWSTWA

Katarzyna Guz, Małgorzata Uhrynowska, Ewa Brojer

Pracownia Genetyki Komórek Krwi i Chimeryzmu, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Z badań prospektywnych noworodków przeprowadzonych w wielu ośrodkach na świecie, w tym w Polsce, wynika, że głęboka małopłytkowość (< 50 tys. G/L) występuje z częstością 15 : 10 000. W tej grupie ok. 30% (4/10 000) stanowią noworodki, u których przyczyną małopłytkowości są matczyne alloprzeciwciała wytworzone w czasie ciąży w wyniku konfliktu płytkowego. Najczęściej są to przeciwciała do antygenu HPA-1a wytworzone przez kobiety HPA-1a-ujemne (~85%); pozostałe to głównie przeciwciała do antygenu HPA-5b. Choroba ta – alloimmunologiczna małopłytkowość płodów/norodków (AIMP/N) – w ok. 25% przypadków prowadzi do wylewu do ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Może ona wystąpić już w pierwszej ciąży. W procedurach leczniczych przeciwdziałających skutkom małopłytkowości istotną rolę odgrywają przetoczenia koncentratów krwinek płytkowych. U noworodków urodzonych przez matki z przeciwciałami anti-HPA zalecane jest przetaczanie płytek bez antygenu, do którego skierowane są przeciwciała matki.

Dotąd AIMP/N rozpoznawano w Polsce rzadko (kilkanaście przypadków rocznie), choć wg szacunków powinno się ją rozpoznawać u 300–400 noworodków, w tym u ok. 30 dzieci z wylewem do OUN.

By zapobiegać skutkom AIMP/N, trwają obecnie na świecie prace nad wprowadzeniem immunoprofilaktyki konfliktu HPA-1a. Przygotowaniem do jego stoso-

wania jest opracowanie metod badań przeglądowych antygenu HPA-1a w celu identyfikacji ciężko zagrożonych AIMP/N. Takie badania przeprowadzono w Polsce w ramach programu PREVFNAIT (patrz Guz i wsp.) w grupie 24 259 kobiet. Wykazano, że 2,4% z nich nie ma antygenu HPA-1a (grupa ryzyka AIMP/N), a 11% z nich wytwarza przeciwciała. Badania w ramach grantu przeprowadzono u kobiet z całej Polski, a od czasu jego zakończenia są one dostępne w IHiT. Przeprowadzenie szerokiego programu badań zwiększyło w znacznym stopniu wiedzę lekarzy i pacjentek o AIMP/N, którą obecnie rozpoznaje się coraz częściej. Diagnostykę prowadzi obecnie nie tylko IHiT, lecz także RCKiK w Lublinie, Białymstoku, Kielcach, Poznaniu. Wraz z upowszechnieniem diagnostyki zwiększa się zapotrzebowanie na dawców bez antygenów HPA, leżących u podłoża choroby. Dawcy o znaczących antygenach HPA, a także o oznaczonych antygenach HLA, są też niezbędni dla zapewnienia skuteczności przetoczeń u chorych opornych na przetoczenia płytek. Na wykładzie będą omówione metody oznaczeń antygenów HPA u krwiodawców oraz aktualny stan dostępności takich dawców w Polsce (patrz plakat Guz i wsp.).

SESJA: TRANSFUZJOLOGIA 3 – ORGANIZACJA I JAKOŚĆ W TRANSFUZJOLOGII

PATHOGEN INACTIVATION: PROSPECTIVE PATIENT PROTECTION FOR ALL BLOOD COMPONENTS

Richard J. Benjamin, MD, PhD, FRCPath

Chief Medical Officer, Cerus Corporation, Concord, CA
Professor of Pathology (Adjunct), Georgetown University,
Washington, D.C.

Established and emerging pathogens continue to threaten the safety and sustainability of the blood supply. Bacterial contamination of platelets remains one of the most significant infectious risks in transfusion, with clinical sepsis and fatal outcomes. Emerging pathogens continue to arise as populations grow, and as urbanization and global travel increase, causing an adverse impact to the blood supply. Though testing of blood and donor deferrals have reduced transfusion-transmitted infectious risk, these mitigations alone may neither be sustainable nor economically feasible. Regulatory agencies are now introducing standards and guidances that present pathogen inactivation as an alternative to certain tests. Unlike testing, pathogen inactivation is inherently proactive and broad in its ability to mitigate transfusion-transmitted infectious risk due to bacteria, viruses and protozoa.

This symposium will explore the movement toward a complete blood safety solution with pathogen inacti-

vation for platelets, plasma, and red blood cells. Details will be provided on the development of the INTERCEPT Blood System for red blood cells (RBCs), including updates on the fully enrolled clinical trial (SPARC) that evaluates the safety and efficacy of INTERCEPT treated RBCs in chronically-transfused thalassemia major patients. US government-funded (BARDA) funded Phase III clinical trials designed to support possible red cell licensure for INTERCEPT System for Red Blood Cells in the U.S. will be discussed; this includes the ReCePI study which assesses the safety and efficacy of INTERCEPT treated RBCs in cardiovascular surgery patients, SCient, a study of sickle cell anemia patients undergoing Red Cell Exchange transfusion, and RedeS, a study underway in areas of the US currently at risk for Zika virus epidemics.

IMPROVING BLOOD SAFETY WITH RIBOFLAVIN AND UV LIGHT

Jeffrey McCullough, MD

During the last two decades, the safety of blood has improved due to technological, economic and social improvements. Nevertheless, there are continuous unforeseeable threats with the emergence and re-emergence of blood-borne pathogens. Pathogen reduction (PR) is a proactive strategy to mitigate the risk of transfusion-transmitted infections. One of these technologies. Mirasol, uses riboflavin (vitamin B₂) and ultraviolet light for pathogen reduction. This can be used for the treatment of single plasma units and platelet concentrates and has been successfully implemented in more than 2 dozen countries worldwide. Ideally, all labile blood components should be PR treated to ensure a safe and sustainable blood supply in accordance with regional transfusion best practices. Recently, it has been demonstrated through a clinical trial in a malaria-endemic country that the Mirasol® Pathogen Reduction Technology System for treatment of whole blood does reduce the risk of transfusion-transmitted malaria. This technology has received CE marking, a significant step forward in realizing blood safety where whole blood transfusion is the norm, such as in sub-Saharan Africa and in far-forward combat situations.

Studies are ready to begin of packed red cells prepared from Mirasol®-treated whole blood. When these studies are complete and this system is operational, universal pathogen reduction should be available for all blood components.

SESJA: TRANSFUZJOLOGIA 4 – BEZPIECZEŃSTWO KRWI I JEJ SKŁADNIKÓW

HOW WE HAVE IMPLEMENTED PATIENT BLOOD MANAGEMENT AND THE RESULTING POSITIVE BENEFITS FOR THE PATIENTS AND THE HEALTH SYSTEM

Mark H. Yazer, MD

Professor of Pathology, University of Pittsburgh

Adjunct Professor of Clinical Immunology, the University of Southern Denmark

Patient blood management (PBM) employs a multimodal approach to optimizing patients such that allogeneic transfusions might be avoided, and if not, providing the smallest effective dose of the product as guided by the available evidence.

The most fundamental element in the implementation of a hospital based PBM program is the availability of high quality evidence. For example, having evidence-based transfusion thresholds in place is an important benchmark to gauge a potential recipient's need for a transfusion. Recently several well designed randomized controlled trials (RCT) have demonstrated the lack of superiority of liberal red blood cell (RBC) transfusion strategies compared to restrictive strategies in a variety of different patient populations ranging from those in the intensive care unit (ICU) to patients with an acute gastrointestinal bleed. Similarly, lower doses of platelets have been shown to be as effective in preventing spontaneous bleeding in hematology/oncology patients compared to larger doses. The evidence base for the use of plasma in RCTs and observational trials is also accumulating. Implementing these transfusion thresholds can be done through education sessions with blood product prescribers, and reinforced using electronic prompts in the computerized physician order entry system that indicates when a patient might not require a transfusion based on their laboratory values. These alerts have been successful in reducing some transfusions that do not appear to be evidence based. Electronic alerts can also be useful in alerting surgeons when their pre-operative patients are anemic so that the anemia can be treated before surgery thereby obviating the need for peri-operative RBC transfusions.

Another important element of a hospital based PBM program is waste reduction. Waste can occur in many forms from discarding unused blood products to pre-transfusion testing that is performed unnecessarily. To reduce wastage of blood products, small tags indicating the nature of the product, its storage conditions and its expiration time are affixed to all blood products issued to the operating room, platelets and cryoprecipitate can be issued in tote bags to discourage their placement in ice chests, and computer screen savers can

be designed to reinforce these messages. Unnecessary testing can be reduced by first identifying the problem and then educating the clinicians about the appropriate times and quantities in which to order testing.

nych akceptacją dawcy polskiego lub zagranicznego oraz liczby procedur zakończonych faktycznym przeszczepieniem biorcy w ciągu roku kalendarzowego oraz czas realizacji doborów.

SESJA: TRANSPLANTACJE AUTOLOGICZNE I ALOGENICZNE – NOWE PERSPEKTYWY

EFEKTYWNOŚĆ PROCEDURY DAWCA – BIORCA KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH Z PERSPEKTYWY POLTRANSPLANTU

Artur Kamiński

Centrum Organizacyjno-Koordynacyjne do spraw
Transplantacji „Poltransplant”
Krajowe Centrum Bankowania Tkanek i Komórek
Zakład Transplantologii i Centralny Bank Tkanek,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Realizacja doboru niespokrewnionych dawców komórek hematopoetycznych jest przeprowadzana przez medyczne laboratoria diagnostyczne, pełniące często jednocześnie rolę ośrodka poszukującego. Poltransplant zleca i koordynuje realizację procedur doboru niespokrewnionych dawców szpiku od 2001 r. Procedury te są finansowane ze środków publicznych na podstawie corocznie ogłaszanych przez Poltransplant konkursów, a następnie podpisanych umów realizatorów wyłanianych w drodze konkursu.

Zgodnie z obowiązującymi zasadami doboru niespokrewnionych dawców szpiku Poltransplant dokonywał wstępnego przeszukania rejestru BMDW w celu ustalenia rejestrów lub banków krwi pępowinowej posiadających wstępnie zgodnych dawców lub jednostki krwi pępowinowej. Wraz z informacją o skierowaniu wniosku do realizacji Poltransplant przekazywał ośrodkom transplantacyjnym wynik przeszukania rejestru BMDW dla ich pacjenta. Ośrodek dobierający miał obowiązek uzgadniać realizację poszukiwania i doboru z ośrodkiem transplantacyjnym, który zakwalifikował chorego do przeszczepienia.

Corocznie wyraźnie wzrasta liczba pacjentów kwalifikowanych do przeszczepienia komórek krwiotwórczych od dawcy niespokrewnionego. Początkowo liczba wniosków wynosiła 160–200 doborów rocznie, w latach 2009–2010 sięgnęła liczby ok. 500, a w latach 2015–2016 realizowano ponad 700 doborów.

W prezentacji zostaną przedstawione liczby realizowanych corocznie doborów, liczby wniosków ze wskazaniem ośrodka doborowego, procedur zakończonych akceptacją dawcy do przeszczepu, zakończonych bez doboru dawcy zaakceptowanego do przeszczepienia z ich przyczynami, liczby dawców zaakceptowanych w pełni zgodnych i z niezgodnościami, liczby doborów dawcy niespokrewnionego z liczbą procedur zakończonych

SESJA: NIEDOKRWISTOŚCI

MIKROANGIOPATIA – NIEDOCENIANA PRZYCZYNA NIEDOKRWISTOŚCI HEMOLITYCZNEJ

Kazimierz Sułek

Klinika Hematologii Wojskowego Instytutu Medycznego
w Warszawie
Oddział Hematologii Mazowieckiego Szpitala
Specjalistycznego w Radomiu

Niedokrwistości hemolityczne na tle mechanicznego niszczenia krwinek czerwonych w łożysku naczyniowym mogą wynikać z patologii dużych naczyń lub mikroangiopatii. O ile ta pierwsza grupa przyczyn jest dobrze utrwalona w świadomości lekarza i rozpoznawalna na podstawie wywiadu lub badania przedmiotowego (zastawkowe wady serca i aorty, sztuczne zastawki, przecieki wewnątrzsercowe, naczyńniaki), to aspekt mikroangiopatii jest rzadziej rozważany i bardziej złożony oraz wymaga specyficznych dociekań diagnostycznych. Do niedokrwistości hemolitycznej dochodzi w wyniku rozsianej zakrzepicy wewnątrz naczyń na poziomie mikrokrażenia, z jednoczesnym zużyciem płytek krwi lub z dominującym niszczeniem erytrocytów przeciskających się między lub przecinających na nitkach włókna. W praktyce trzeba myśleć o kilku nieco odmiennych postaciach klinicznych:

- zakrzepowa plamica małopłytkowa (TTP),
- zespół hemolityczno-mocznicowy (HUS),
- TTP/HUS związany z ciążą,
- zespół HELLP,
- zespół DIC,
- złośliwe nadciśnienie tętnicze,
- hemoglobinuria marszowa.

Choć podstawowe wykładniki hemolizy (hiperbilirubinemia, podwyższony poziom wolnej hemoglobiny, obniżony poziom haptoglobiny, retikulocytoza, odczyn erytroblastyczny w szpiku) są bardzo ważne, to główną cechą laboratoryjną nasuwającą podejrzenie któreś z ww. postaci jest obecność fragmentów krwinek czerwonych (schistocytów) w rozmazach krwi obwodowej.

To wymaga oceny krwinek czerwonych w mikroskopie, gdyż tylko niektóre analizatory sygnalizują ich obecność w wiarygodnym stopniu. Ta ocena jest ważna również dla monitorowania wyników leczenia mikroangiopatii np. w TTP lub DIC.

SESJA: STANDARYZACJA W CYTOGENETYCE

NOWA KLASYFIKACJA WHO 2016: NOWOTWORY LIMFOPROLIFERACYJNE. POSTĘPY W DIAGNOSTYCE GENETYCZNEJ CHŁONIAKÓW

Barbara Pieńkowska-Grela

Samodzielną Pracownia Cytoogenetyki, Centrum Onkologii –
Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa

Chłoniaki to rozrosty klonalne pochodzące z dojrzających lub niedojrzających limfocytów B lub T/NK. Ich klasyfikacja jest wysoce złożona i nadal stanowi przedmiot ustaleń. Do 1994 r. istniało ok. 20 różnych podziałów [np. *Working Formulation for Clinical Usage*, klasyfikacja kilońska, klasyfikacja R.E.A.L. (*Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms*)]. Od 2008 r. obowiązywała klasyfikacja WHO 2008, w której istotne miejsce zajęły dane genetyczne uzyskane na podstawie analizy komórek nowotworu (S.H. Swerdlow et al., 2008, *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue. World Health Organization*). Pod koniec ubiegłego roku pojawiła się modyfikacja tej klasyfikacji – *The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms* (S.H. Swerdlow et al. *Blood* 2016, 127: 2375-2390; doi:10.1182/blood-2016-01-643569). Główne zmiany w obecnej wersji wynikają z istotnych postępów w poznaniu i rozumieniu czynników genetycznych, które mają wpływ na podejście diagnostyczne, oczekiwania kliniczne oraz strategię terapeutyczną nowotworów limfoidalnych. Obszar użyteczności danych genetycznych w klasyfikacji chłoniaków obejmuje zarówno ścisłe kryteria diagnostyczne (cytoogenetyczne i molekularne), czynniki prognostyczne, jak i czynniki predykcyjne. Pojawiły się nowe jednostki (np. *B-ALL with intrachromosomal amplification of chromosome 21* z powieleniem genu *RUNX1*), *Predominantly diffuse FL with 1p36 deletion*, podgrupy GCB i ABC w chłoniaku rozlanym, rozszerzono grupę *B-ALL with translocations involving tyrosine kinases or cytokine receptors (BCR-ABL1-like ALL)* o przypadki z alternatywnymi fuzjami – partner inny niż gen *BCR* lub aktywacja innej kinazy (*ABL2*, *PDGFRB*, *NTRK3*, *TYK2*, *CSF1R*, *JAK2*) – wszystkie one odpowiadają na leczenie ITK. Istotną zmianę odnotowano w obszarze czynników złego rokowania: podkreśla się konieczność rozszerzenia oceny statusu genu *TP53* o badanie mutacji – obok rutynowego określenia obecności złe rokującej delecji w CLL/SLL oraz PCM. Obecność mutacji *BRAF V600E* jest obecnie dodatkowym czynnikiem diagnostycznym w białaczce włóchatokomórkowej: występuje w niemal wszystkich przypadkach *classical* HCL i ułatwia diagnostykę różnicową. Wyróżniono nowe jednostki prowizoryczne,

m.in. *Large B-cell lymphoma with IRF4 rearrangement* najczęściej z t(6;14)(p25;q32) czy *Burkitt-like lymphoma with 11q aberration*, ale bez rearanżacji *MYC*, a z zaburzeniami 11q. Diagnostyka różnicowa jest szczególnie trudna w grupie chłoniaków agresywnych. Chłoniaki wszystkich kategorii HGBL mogą morfologicznie być podobne: *B-lymphoblastic leukemia/lymphoma* (B-LBL), BL i DLBCL, jak również chłoniaki pośrednie (DLBCL/BL). Ich morfologiczne i immunofenotypowe rozróżnienie jest bardzo subiektywne, obecnie na podstawie nowych markerów genetycznych zaproponowano nowy algorytm diagnostyczny w tym obszarze.

PREZENTACJA OSIĄGNIĘĆ I AKTUALNYCH BADAŃ PRACOWNI DIAGNOSTYKI GENETYCZNEJ

Monika Lejman^{1,2}, Mariusz Babicz²,
Dorota Winnicka^{1,2}, Borys Styka², Ilona Jaszczuk³,
Katarzyna Wojciechowska³, Marta Holweg²,
Jerzy R. Kowalczyk⁴

¹Pracownia Diagnostyki Genetycznej II Katedry Pediatrii,
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Pracownia Diagnostyki Genetycznej, Uniwersytecki Szpital
Dziecięcy w Lublinie

³Poradnia Genetyczna, Klinika Hematologii, Onkologii
i Transplantologii, Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Lublinie

⁴Klinika Hematologii, Onkologii i Transplantologii II Katedry
Pediatrii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Prezentujemy osiągnięcia i aktualne badania prowadzone w Pracowni Diagnostyki Genetycznej. Pracownia jest jednostką naukowo-diagnostyczną Kliniki Hematologii, Onkologii i Transplantologii Dziecięcej oraz występuje w strukturach szpitalnej polikliniki razem z Poradnią Genetyczną.

Cel: Pracownia posiada dwa główne profile badań diagnostycznych wykonywanych u dzieci z wrodzonymi chorobami genetycznymi i nabytymi układem krwiotwórczym. Działalność naukowa pracowni obejmuje przede wszystkim badania cytoogenetyczne i molekularne w nowotworach układu krwiotwórczego u dzieci, we współpracy z wieloma krajowymi ośrodkami naukowymi. Od niedawna prowadzona jest działalność dydaktyczna w zakresie hematologicznej diagnostyki laboratoryjnej.

Materiał i metody: Pracownia ma aparaturę diagnostyczno-laboratoryjną do prowadzenia badań cytoogenetycznych z krwi obwodowej oraz szpiku kostnego. Zakres wykonywanych badań cytoogenetyczno-molekularnych jest oparty na technikach prążkowych, FISH, HR-CGH oraz MLPA. Poza wykonywaniem badań diagnostycznych dla Poradni Genetycznej pracownia wykonuje szeroką diagnostykę w zakresie chorób nowotworowych układu krwiotwórczego z kariotypu ko-

mórek szpiku kostnego. W ramach procedury przeszczepowej u pacjentów po allogenicznym przeszczepie komórek krwiotwórczych pracownia wykonuje analizy chimeryzmu komórkowego z wykorzystaniem metody QF STR PCR. Obecnie w ramach badań naukowych wykonywane są pilotażowe badania przy użyciu macierzy wysokorozdzielczej CytoScanHD (Affymetrix) u dzieci z ALL. Trwają prace nad wdrożeniem tej techniki do rutynowej diagnostyki postnatalnej w pracowni.

Wyniki: Pracownia jest ośrodkiem wykonującym badania diagnostyczne w zakresie chorób wrodzonych i nabytych odpowiadającym standardom europejskim – posiada programy oceny kontroli jakości badań diagnostycznych (CEQA, Labquality, rekomendacje PTGC na lata 2015–2016), uczestniczyła w Kontroli Jakości Badań FISH w Hematoonkologii (2008–2014). W pracowni wykonano 6300 badań w cytogenetyce klasycznej, 2600 badań FISH, 2700 oznaczeń chimeryzmu. Pracownicy PDG uczestniczą czynnie w grantach naukowych, publikują prace w czasopismach krajowych i zagranicznych i są członkami towarzystw naukowych. Pracownia od 11 lat prowadzi program „Kontroli i weryfikacji jakości badań genetycznych w ostrych białaczkach u dzieci” w ramach Narodowego Programu Zwalczania Chorób Nowotworowych.

Część II

STRESZCZENIA UCZESTNIKÓW

ŻYŁNA CHOROBA ZAKRZEPOWO-ZATOROWA 1

PRZEWODNICZĄCY: K. ZAWILSKA
(POZNAŃ), Z. KRASIŃSKI (POZNAŃ)

Doniesienia ustne

VENOUS THROMBOEMBOLISM (VTE) IN HOMOZYGOUS CARRIERS OF FACTOR V LEIDEN MUTATION PATIENTS (FVL)

dr Bernadeta Ceglarek, dr med. Anna Jolanta Sikorska,
prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska,
mgr Anna Bućko, prof. dr hab. med. Jerzy Windyga

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Introduction: Venous Thromboembolism (VTE) in Homozygous Carriers of Factor V Leiden Mutation Patients (FVL).

Aim: The 21 years retrospective clinical analysis of homozygous FVL patients diagnosed and treated in the IHTM.

Material and methods: During last 21 years 132 homozygous carriers of FVL mutations were diagnosed in IHTM. We analyzed 103 homozygous FVL mutation patients (74F, 58M; age 18-64). DNA was isolated using GeneMatrix kit (Eurx, Poland). The FVL mutation was identified by PCR/RFLP method according to Bertina *et al.* (1994) using restriction enzyme Mnl1 (Eurx, Poland). Prothrombin G20210A mutation was determined according to Poort *et al.* (1966) using Hind III restriction enzyme (Eurx, Poland).

Results: Homozygous factor V Leiden was detected in 74 female (56.1%) and 58 male (43.9%) patients. Deep venous thrombosis (DVT) was observed in 125/132 patients. Heterozygous G20210A mutation of prothrombin gene occurred with FVL in 5/132 homozygous patients. Mean age of female and male patients was similar (30.5 vs. 30.7 yrs) at the moment of the first DVT episode (K – 16/74 (21.6%); M – 6/58 (10.3%)). Proximal and distal DVT was more often observed in female than male patients. 2-4 episodes of DVT occurred in 17/125 pts (13.6%) more often in female patients (F – 11, M – 6). All the patients had several thrombotic risk factors, particularly age > 30 yrs and familial DVT (K – 8/74, M – 1/58). Deep venous thrombosis atypical localization occurred in 3.03% FVL patients and thrombotic stroke in 8.3% FVL patients. Dominant thrombotic risk factors were familial DVT. Treatment of all patients was similar: low molecular weight heparin (LMWH) followed by anticoagulant vitamin K (VKA).

Conclusions: Venous thromboembolism can occur in carriers of homozygous FVL mutation particularly above 30 yrs old if several pathophysiological, environmental and genetic thrombotic risk factors are present.

GENETIC CHARACTERIZATION OF ANTITHROMBIN, PROTEIN C AND PROTEIN S DEFICIENCIES IN POLISH PATIENTS

dr hab. Ewa Wpasek¹, Javier Corral²,
Martine Alhenc-Gelas³, Wojciech Sydor⁴,
Teresa Iwaniec⁴, Magdalena Celińska-Lowenhoff⁴,
Daniel P. Potaczek⁵, Aleksandra Blecharczyk⁶,
Krystyna Zawilska⁷, Jacek Musiał⁴, Anetta Undas¹

¹Uniwersytet Jagielloński *Collegium Medicum*, John Paul II Hospital, Cracow, Poland

²Centro Regional de Hemodonación, Universidad de Murcia, Murcia, CIBERER, Spain

³Hématologie Biologique, AP-HP Hôpital Européen G. Pompidou, Paris, France

⁴Department of Internal Medicine, Jagiellonian University Medical College, Kraków, Poland

⁵John Paul II Hospital, Cracow, Poland; Institute of Laboratory Medicine and Pathobiochemistry, Molecular Diagnostics, Philipps – Universität Marburg, Marburg, Germany

⁶John Paul II Hospital, Cracow, Poland

⁷University of Medical Science, Diagnostic and Treatment Centre INTERLAB, Poznań, Poland

Wstęp: Wrodzone niedobory naturalnych antykoagulantów, takich jak antytrombiny (AT, gen: SERPINC1), białka C (PC, PROC) i białka S (PS, PROS1), z częstością występowania w populacji europejskiej odpowiednio 0,2–0,3% i 0,5%, są związane ze zwiększonym ryzykiem incydentów zakrzepowo-zatorowych. Dotychczas opublikowano tylko kilka doniesień o niedoborach tych antykoagulantów u polskich pacjentów w wyniku zaburzeń genetycznych.

Cel: Scharakteryzować częstotliwość mutacji w genach: SERPINC1, PROC i PROS1 oraz związane z nimi incydenty zakrzepowo-zatorowe u chorych z południowej Polski z niedoborami AT, PC lub PS.

Materiał i metody: Do badania włączono 90 niespokrewnionych pacjentów w wieku 40,1 ± 13,2 roku z niedoborem AT ($n = 35$), PC ($n = 28$) lub PS ($n = 27$), z żyłą 73 (81%) lub tętnicą 17 (19%) chorobą zakrzepowo-zatorową. Warianty genetyczne analizowano za pomocą sekwencjonowania sangerowskiego lub amplifikacją sondy zależną od ligacji.

Wyniki i wnioski: Opisano 20 (29%) nowych mutacji, głównie w genach SERPINC1 i PROC. Mutacje missensowne obejmowały 84% wszystkich mutacji w genie PROC oraz ok. 50% w genach SERPINC1 i PROS1. Mutacje nonsensowne i miejsc splicingowych rozkładały się we wszystkich trzech genach odpowiednio w 8–31% i 8–23%. Wskaźnik detekcji mutacji wynosił 90% zarówno dla AT, jak i PC, gdy aktywność tych białek była niższa niż 70%, podczas gdy dla genu PROS1 wskaźnik ten osiągnął 80% przy wolnym PS poniżej 40%. Według naszej wiedzy jest to największa opisana kohorta polskich pacjentów z niedoborami naturalnych antykoagulantów w wyniku mutacji genetycznych. Opi-

sano tutaj szereg nowych mutacji, głównie u pacjentów z niedoborami AT i PC.

Introduction: Inherited deficiencies of natural anti-coagulants such as antithrombin (AT; gene: SERPINC1), protein C (PC; PROC) and protein S (PS; PROS1), with the prevalence in the general European population of 0.02-0.17%, 0.2-0.3% and 0.5%, respectively, are associated with increased risk of thromboembolic events. Only a few case reports on Polish-deficient patients with known causal mutations have been published until now.

Aim: To characterize the frequency of SERPINC1, PROC and PROS1 mutations and their thromboembolic manifestations in patients from southern Poland with AT, PC, or PS deficiencies.

Material and methods: Ninety unrelated patients aged 40.1 ± 13.2 years with AT ($n = 35$), PC ($n = 28$) or PS ($n = 27$) deficiencies, with a history of venous 73 (81%) or arterial 17 (19%) thromboembolism, were screened for mutations using the Sanger sequencing and/or multiplex ligation-dependent probe amplification.

Results and conclusions: Twenty mutations (29%) described here were new, mostly in SERPINC1 and PROC genes. Missense mutations accounted for 84% of all mutations in PROC gene and approximately 50% in SERPINC1 and PROS1 genes. The ratio of non-sense and splice-site mutations was in all three genes of 8-31% and 8-23%, respectively. The mutation detection rate was 90% for both, AT or PC when anticoagulant activity was below 70%, while for PROS1 gene, this rate reached 80% at the free PS levels below 40%. To our knowledge, this is the largest cohort of Polish patients deficient in natural anticoagulants evaluated for the causal genetic background. Several new Polish detrimental mutations were detected mostly in AT and PC-deficient patients.

ŻYŁNA CHOROBA ZAKRZEPOWO-ZATOROWA 2

PRZEWODNICZĄCA:

M. PODOLAK-DAWIDZIAK (WROCŁAW)

Doniesienia ustne

RECURRENT BUDD-CHIARI SYNDROME (BCS) IN A PATIENT WITH POLYCYTHEMIA VERA (PV), PROTEIN S DEFICIENCY AND HYPERHOMOCYSTEINEMIA (HH) AND ABNORMAL RESISTANCE TO ACTIVATED PROTEIN (APCR) IN THE ABSENCE OF FACTOR V LEIDEN MUTATION (FVL) FOLLOWING LIVER TRANSPLANT

dr med. Anna Jolanta Sikorska,
dr Bernadeta Ceglarek, dr med. Beata Baran,
dr med. Eliza Pleban,
prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska,
prof. dr hab. med. Piotr Szopiński

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Introduction: Budd-Chiari syndrome (BCS) is a rare condition recognized in imaging studies and characterized by thrombotic obstruction of the hepatic venous outflow.

Aim: Presentation of the BCS clinical course in a patient with PV and additional trombotic risk factors following liver transplant (LT).

Material and methods: Factor V Leiden mutation was detected using RFLP/PCR method (EURx, Poland); APCR and protein S deficiency using Siemens reagent. Case report: A 35 year old patient with BCS and PV, progressive fulminant hepatic impairment as result of decompensated liver cirrhosis was subjected to orthotopic cadaveric LT using piggy-back technique. Percutaneous endoscopic jejunostomy (PEJ) was used for nutritional support. Crossmatching was negative as no antibodies against lymphocytes were found in the recipient's serum. The transplanted organ took up function immediately after surgery. On the second day an inferior vena cava (VCI) obstruction was reported just below the right atrium. CT angiography revealed thrombotic obstruction of the hepatic venous outflow, hepatosplenomegaly, ascites that required paracentesis. Gastroscopic findings included oesophageal varices grade 1, reduction in daily urine output, increased blood urea, HH (19.8 mmol/l; n: 5.0-12.0 mmol/l), hypoproteinaemia, hypoalbuminemia, protein S deficiency – 53% (n: 67.5-139%), APCR 0.48 (n: 0.7-1.2); absence of FVL (G1691A) mutation. Balloon technique was applied for VCI obstruction which resulted in resolution of ascites. Successful therapy followed with

Enoxaparinum naticum twice a day, hydroxycarbamide and immunosuppressive corticosteroids, Mycophenolus mofetil and Tacrolimusum.

Results and conclusions: Protein S deficiency with HH and abnormal APCR in the absence of Leiden mutation may be considered risk factors for recurrence of hepatic vein thrombosis in a patient with PV following liver transplant.

OCENA RYZYKA WYSTĄPIENIA ŻYŁNEJ CHOROBY ZAKRZEPOWO-ZATOROWEJ W PRZEBIEGU NOWOTWORÓW LIMFOPROLIFERACYJNYCH PODDANYCH LECZENIU – ZASTOSOWANE SKALI WG KHORANY

dr n. med. Joanna Rupa-Matysek,
dr hab. n. med. Lidia Gil,
dr hab. n. med. Maciej Kaźmierczak,
dr n. med. Marta Barańska,
prof. dr hab. n. med. Mieczysław Komarnicki

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku,
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Wstęp: Przydatność oceny ryzyka wystąpienia żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej (ŻChZZ) za pomocą skali wg Khorany (*Khorana Risk Score* – KRS) u chorych otrzymujących chemioterapię ambulatoryjną z powodu nowotworów limfoproliferacyjnych nie jest określona.

Cel: Celem pracy była ocena zastosowania skali wg Khorany do identyfikacji chorych z wysokim ryzykiem wystąpienia powikłań zakrzepowo-zatorowych wśród nowo rozpoznanych pacjentów poddanych ambulatoryjnej chemioterapii z powodu chłoniaka rozlanego z dużych komórek B (DLBCL) i chłoniaka Hodgkina (HL).

Materiał i metody: Analizowano retrospektywnie ryzyko wystąpienia powikłań zakrzepowych wg KRS z wystąpieniem ŻChZZ u 428 dorosłych pacjentów z rozpoznaniem DLBCL ($n = 241$) i HL ($n = 187$) otrzymujących chemioterapię od czerwca 2009 r. do lipca 2016 r. Na podstawie danych kliniczno-laboratoryjnych, obejmujących lokalizację (chłoniak), liczbę płytek krwi ≥ 350 G/l, leukocytów ≥ 11 G/l, stężenie hemoglobiny ≤ 10 g/dl oraz BMI > 35 kg/m² (po 1 punkcie), przyporządkowano chorych do pośredniej (1–2 punkty) lub wysokiej (≥ 3 pkt) grupy ryzyka wystąpienia ŻChZZ wg KRS.

Wyniki i wnioski: W okresie obserwacji (Me 37 miesięcy, zakres 0,5–92) stwierdzono 64 przypadki ŻChZZ (15%), 56 (13%) pacjentów zmarło. Pacjenci z rozpoznaniem DLBCL byli starsi i w wyższym stadium zaawansowania choroby w porównaniu z grupą z HL ($p < 0,001$), natomiast częściej masywne zmiany węzłowe

(*bulky disease*) stwierdzano u chorych na HL ($p = 0,008$). Analiza ryzyka wystąpienia ŻChZZ wg KRS wykazała ryzyko wysokie u 64 chorych (15%) i ryzyko pośrednie u 364 pacjentów (85%). W grupie wysokiego ryzyka wg KRS większość pacjentów stanowili chorzy na HL (61%). U 19% pacjentów leczonych z powodu DLBCL i u 10% z HL rozpoznano ŻChZZ ($p = 0,0143$). W grupie wysokiego i pośredniego ryzyka wg KRS stwierdzono podobną częstość ŻChZZ (17% vs 15%). Zastosowanie KRS nie pozwoliło na oszacowanie ryzyka i przewidywanie ŻChZZ (PPV – 15%, NPV – 82% i AUC = 0,51). W modelu wielowariantowym masywne zmiany węzłowe (*bulky disease*, OR 2,34; 95% CI: 1,62–3,36, $p < 0,0001$), wysoka grupa ryzyka zaawansowania wg IPI/IPS (OR 1,32; 95% CI: 1,01–1,74, $p = 0,049$) i podtyp histologiczny DLBCL (OR 1,61; 95% CI: 1,17–2,19, $p = 0,003$) istotnie zwiększały ryzyko wystąpienia ŻChZZ. Nie wykazano związku KRS ze śmiertelnością badanych pacjentów.

Wnioski: W analizowanej grupie chorych z chłoniakami zastosowanie KRS nie pozwoliło na dokładne określenie ryzyka i prognozowanie wystąpienia ŻChZZ. Wskazuje to na potrzebę opracowania modelu specyficznego dla chłoniaków.

ŻYŁNA CHOROBA ZAKRZEPOWO-ZATOROWA 1 I 2

Plakaty

P1. RECURRENT ARTERIOVENOUS FISTULA THROMBOSIS IN FEMALE PATIENT WITH ANTIPHOSPHOLIPID ANTIBODY SYNDROME (APS), FACTOR V LEIDEN MUTATION AND MTHFR C677T MUTATION

dr Bernadeta Ceglarek¹,
dr med. Anna Jolanta Sikorska¹,
prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska¹,
dr med. Justyna M. Teliga-Czajkowska²,
mgr Agata Lewandowska¹,
mgr Alicja Elżbieta Woźniak¹,
prof. dr hab. med. Jerzy Windyga¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Warszawski Uniwersytet Medyczny

Introduction: Vascular access-related complications are an important cause of morbidity which accounts for 14-17% of hospitalizations for regular dialyses. Some studies imply anastomatic stenosis as the major predisposing factor for thrombotic complications. Some recent reports suggest antiphospholipid antibodies as the likely cause of such complications.

Aim: We describe the case of a 43 year old female with LA, factor V Leiden and MTHFR C 677T gene mu-

tations who experienced 3 episodes of recurrent arteriovenous fistula thrombosis. Her recurrent thrombotic complications were related to PTFE grafts. In the perioperative period she was monitored for anastomotic stenosis and evaluation of hypercoagulable states.

Material and methods: The patient was admitted to IHTM for 3 severe recurrent arteriovenous fistula thrombosis episodes following 22 years of hemodialysis and was treated with enoxoparin. Medical history: diabetes mellitus type 1 complicated by polyneuropathy, nephropathy, renal failure and 22 years of hemodialysis post kidney and pancreas graft and transplant rejection, blindness, obliterative atheromatosis of lower limbs arteries, right foot ulceration, sarcoidosis, post operation oophororrhagia, oopheroma, strumectomy, parathyroidectomy and chronic hepatitis B and C. No lymphadenopathy or hepatosplenomegaly were determined. Laboratory findings included: factor V Leiden and MTHFR C 677T gene mutations-heterozygotes, elevated level of plasma: homocysteine (43.9 $\mu\text{mol/l}$, ref. range 5-14 $\mu\text{mol/l}$), LDL and HDL cholesterol (298.6 mg/dl) and triglycerides (278.9 ng/dl) and factor VIII activity – 268.22%. Weak lupus anticoagulant was found. Therapy with enoxoparin at 1.0 mg/kg dose for 4/7 no hemodialysis days and 0.7 mg/kg dose for 3/7 hemodialysis days s.c. daily dose resulted in clinical improvement: elimination of severe recurrent arteriovenous fistula thrombosis.

Results and conclusions: In the female patient with factor V Leiden and MTHFR C 677T gene mutations recurrent episodes of arteriovenous fistula thrombosis occurred only when lupus anticoagulant was recognized. Long-term enoxoparin therapy was effective in prevention subsequent thrombotic events.

P2. DEEP VEIN THROMBOSIS IN A FAMILY WITH LEIDEN MUTATION (FVL, G1691A) AND ANTITHROMBIN DEFICIENCY (AT) AND ARHD (+) BLOOD GROUP

dr med. Anna Jolanta Sikorska¹,
dr Bernadeta Ceglarek¹,
prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska¹,
dr med. Edyta Odnoczek¹, dr med. Beata Baran¹,
dr med. Justyna M. Teliga-Czajkowska²,
prof. dr hab. med. Jerzy Windyga¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Warszawski Uniwersytet Medyczny

Introduction: In people with inherited thrombophilia the risk of deep vein thrombosis (DVT) is related to the ABO blood type. Blood type AB individuals with thrombophilic mutations are at significantly higher risk of VT. The mechanism by which the non-O blood types

contributes to thrombosis risk in FVL carriers is probably related to factor VIII levels [Morelli *et al.* 2005].

Material and methods: Factor V Leiden (FVL) mutation (G1691A) was identified by PCR/RFLP with restriction enzyme Mnl1 (Erx, Poland) and the AT activity was assessed using Xa-based assay (Innovance Antithrombin, Siemens). Case report: Two cousins of sibling parents were admitted to IHTM at the same time. The younger one (son of the brother), a 31 year old white-collar worker (obesity and hypertension) was diagnosed with VTE due to prolonged immobilization. The elder one (son of the sister) a 40 year old computer programmer (no obesity, hypercholesterolemia or addictions) reported trauma-related swelling and redness of the left lower limb and was diagnosed with DVT (Doppler ultrasound). Incidents of sudden death were reported in families of both siblings; maternal grandparents of the elder cousin as well as the paternal grandparents and father of the younger one and sudden death of the paternal grandfather of the elder. Our studies revealed:

- homozygous mutation in FVL and congenital AT deficiency (58%) in the elder cousin,
- heterozygous FVL mutation and AT in his mother (49.46%),
- heterozygous FVL mutation in his father and his two children,
- AT deficiency (65.92%) in his younger son.

No congenital thrombophilia was determined in the brother of the elder cousin. Heterozygous FVL mutation and AT deficiency (50.13%) were determined in the younger cousin. In family individuals with DVT ARhD (+) blood group occurred.

Results and conclusions: In families with AT, factor V Leiden mutation, ARhD (+) blood group may be an additional thrombotic risk factor.

P3. PORTAL, MESENTERIC AND SPLENIC VEIN THROMBOSIS IN A PATIENT WITH HOMOZYGOUS FACTOR V LEIDEN MUTATION (A1691G) RECEIVING ORAL CONTRACEPTION

dr med. Anna Jolanta Sikorska¹,
dr Bernadeta Ceglarek¹,
prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska¹,
mgr Anna Bućko¹, lek. med. Adela Gwozdowska¹,
dr med. Justyna M. Teliga-Czajkowska²,
prof. dr hab. med. Jerzy Windyga¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Warszawski Uniwersytet Medyczny

Introduction: Portal, mesenteric and splenic vein thrombosis in a patient with homozygous factor V Leiden mutation (A1691G) receiving oral contraception.

Aim: Report on clinical manifestations of thrombosis in homozygous carrier of factor V Leiden receiving oral contraception.

Material and methods: Factor Leiden mutation (G1691A) and mutation G20210A of prothrombin gene were detected using RFLP/PCR method (EURx, Polska). Case report: Patient with no family history of venous thromboembolism, on oral contraceptives (third generation progesterone), during appendectomy at 43 was diagnosed with thrombosis of the portal, splenic and mesenteric vein. Low molecular weight heparin (LMWH) was administered followed by VKA (vitamin K antagonists). Due to unique thrombosis location and young age diagnostics for thrombophilia and myeloproliferative disorders was carried out. No bone marrow proliferative disorder was determined but factor V Leiden (homozygote) was detected. Family testing revealed that asymptomatic mother (65y) and brother (44y) are homozygotes of factor V Leiden.

Results and conclusions: The etiology of splanchnic vein thrombosis is multifactorial therefore the diagnostic process of the entity should comprise searching for genetic and acquired risk factors of VTE.

P4. RECURRENT ARTERIAL THROMBOSIS AS MANIFESTATION OF ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME (APS)

dr med. Anna Jolanta Sikorska, dr med. Marcin Sitarz, dr med. Eliza Pleban, dr Bernadeta Ceglarek, prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska, prof. dr hab. med. Piotr Szopiński

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Introduction: Acute limb ischemia is defined as sudden decrease or worsening in limb perfusion causing a potential threat to extremity viability. Etiology of acute limb ischemia is secondary to emboli, arterial thrombosis, trauma and aortic dissection. The treatment begins with early heparin administration to limit the propagation of thrombus and next urgent surgical intervention or thrombolytic therapy should be performed.

Aim: Presentation of the course of recurrent arterial thrombosis in a patient with no risk factors with antiphospholipid syndrome APS).

Material and methods: Case report: 25 year old patient, with no risk factors, was admitted to IHTM from symptoms that cause ischemia of the right lower extremity claudication distance of about 50 meters for the month. Doppler ultrasound revealed thrombosis of the right common femoral artery (RCFA) and posterior tibial artery (PTA). The patient was treated with low molecular weight heparin (LMWH). Two weeks later, (Aug.25.2016) emergent thrombectomy with

patch plasty of RCFA was performed, followed with acetylsalicylic acid and Clopidogrel as conservative treatment. Laboratory tests in Dec.2016 revealed APS. Again (Dec.2016) he was admitted due to a shortening of claudication distance to 100 meters in the same limb. Doppler ultrasound showed thrombosis anterior tibial artery, tibial-peroneal trunk, PTA and fibular artery. On December 28.2016 unsuccessful fibrinolysis of tibial-peroneal trunk was performed with Actylise. Thrombectomy of tibio-peroneal trunk and popliteal artery with patch plasty and embolectomy of the right anterior tibial artery were performed on Jan.02.2017. Infusion unfractionated heparin was administered followed by VKA (vitamin K antagonists).

Results and conclusions: Fast and accurate diagnosis (APS), effective anticoagulant prophylaxis and surgical intervention play essential role in cases of acute limb ischemia in a young patient.

P5. PROTHROMBOTIC MUTATIONS, PROTEIN C DEFICIENCY AND HYPERHOMOCYSTEINEMIA IN A PATIENT PRESENTING RECURRENT VENOUS THROMBOSIS

dr med. Anna Jolanta Sikorska, dr Bernadeta Ceglarek, prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska, dr med. Beata Baran, dr med. Edyta Odnoczko, dr med. Eliza Pleban, prof. dr hab. med. Piotr Szczepanik, prof. dr hab. med. Jerzy Windyga

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Introduction: Patients with recurrent venous thromboembolism (VTE) may present complex hemostatic defects. In approximately 10% of Factor V Leiden carriers Prothrombin G20210A mutation is also detected. In Polish Factor V Leiden carriers a relatively frequent concomitance of heterozygous protein C deficiency or prothrombin G20210A polymorphism has been confirmed (10% and 30% respectively).

Aim: Analysis of the clinical course of recurrent VTE in a patient with polygenic defect and hyperhomocysteinemia.

Material and methods: Case report: A 33 year old man, living a sedentary lifestyle following occurrence of 2 risk factors for VTE (exam-induced stress, long trip > 6 h) presented swelling, redness and pain in the left lower limb. Doppler ultrasound revealed deep vein thrombosis (DVT) in saphenous and popliteal veins. Anticoagulation therapy with Enoxaparin 1 mg/kg bw/ 7 days and warfarin with INR 2.0-3.0/3 months was effective. The second VTE episode occurred 5 years later following injury of the same limb. Doppler ultrasound

confirmed proximal femoral, popliteal, tibial and peroneal vein thrombosis. Six-month effective anticoagulation therapy followed. Eight months later the patient reported pain in the limb after intense exercise (skiing). Acute vein thrombosis was detected in the external iliac vein and old thrombotic lesions were found in the femoral, popliteal and sagittal veins. The study confirmed heterozygous Factor V Leiden (G1691A) mutation and heterozygous prothrombin G20210A mutation, congenital protein C deficiency – 0.32 IU/dl (0.70-1.40 IU/dl) and hyperhomocysteinemia – 28.5 mmol/l (n: 5.0-12.0 mmol /- l). Family history: The grandfather had a heart attack and died of stroke several years later at the age of 59. The father died of heart attack, the mother had a heart attack and died of stroke. The patients' brother had DVT in both lower limbs, suffered extensive stroke and died at the age of 29.

Conclusions: 1. Recurrent VTE was caused by co-occurrence of several risk factors: genetic defects (Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations), protein C deficiency, elevated serum homocysteine, trauma, severe stress and sedentary lifestyle. 2. Co-occurrence of venous and arterial thrombosis in the family suggests the presence of complex genetic/environmental defects in other family members as well.

P6. RECURRENT ARTERIAL THROMBOSIS IN A PATIENT WITH HYPERHOMOCYSTEINEMIA

dr med. Anna Jolanta Sikorska, dr med. Eliza Pleban,
dr Bernadeta Ceglarek,
prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska,
dr med. Beata Baran,
prof. dr hab. med. Piotr Szopiński

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Introduction: The elements essential for arterial thrombosis (AT) are: vascular disease, hypercoagulability and blood flow impairment (Virchow's triad). Clot formation is frequently associated with vein occlusion, aneurysms, vessel trauma, and prolonged limb immobilization.

Aim: To present the course of AT and ischemic stroke (IS) in a trauma patient.

Material and methods: Case report: A patient with hypertension, dyslipidemia [smoker, drinker, denying diabetes] – traffic accident in 2008 resulting in post-traumatic fracture of acetabulum right hip, right sciatic nerve paresis, dissecting aneurysm of thoracic aorta – stent-graft implantation – was admitted to the Institute for diagnostics of AT. Since 2010 several embolectomy procedures were performed for left leg ischemia in the regional hospital; in Nov. 2013 ischemia symptoms exacerbated – iliofemoral transplant,

in Jan. 2014 ischemia episode due to stenosis – inflated balloon placement and medication change from low molecular weight heparin (LMWH) to VKA (vitamin K antagonists). In Apr. 2015 IS with mixed aphasia occurred with the central paresis of the right facial nerve, right upper limb paralysis and paresis of the right lower limb; in head CT angiography – hypodense MCA signs, IS lesions in frontal and temporal lobes. Echocardiography and Doppler ultrasound of carotid arteries were normal with reduced flow in the left CCA (arteria carotis communis) supplied from collateral circulation. The neurological condition improved following Rivaroxaban treatment and no further thrombosis episodes were reported. Neither congenital thrombophilia nor antiphospholipid syndrome were recognized.

Results and conclusions: Arterial thrombosis occurred although neither thrombophilia nor cardiovascular irregularities were recognized. In a person with hyperhomocysteinemia, extensive trauma resulting in dissecting aneurysm of thoracic aorta were additional risk factors of vulnerability to recurrent thrombosis, anticoagulation therapy and surgery.

P7. VENOUS AND ARTERIAL THROMBOSIS IN A FAMILY WITH HOMOZYGOUS C677T MTHFR GENE POLYMORPHISM AND NORMAL HOMOCYSTEINE LEVELS

dr med. Anna Jolanta Sikorska¹,
dr Bernadeta Ceglarek¹,
prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska¹,
dr med. Beata Baran¹,
dr med. Edyta Odnoczko¹,
dr Justyna M. Teliga-Czajkowska²,
prof. dr hab. med. Jerzy Windyga¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Warszawski Uniwersytet Medyczny

Introduction: C677T MTHFR is a thermolabile variant of metylenetetrahydrofolate reductase indispensable for remethylation pathway of homocysteine metabolism into methionine, with residual enzymatic activity reduced by 50%. Whether the presence of homozygous C677T MTHFR mutation may or may not increase the risk of thrombosis is still an open issue.

Aim: Clinical presentation of venous and arterial thrombosis in a family with homozygous C677T MTHFR polymorphism.

Material and methods: Case report: A 29 year old woman, living a stressful and sedentary lifestyle, with no confirmed thrombosis was hospitalized for symptoms of decompensated hypertension (RR 180/100 mmHg), aphasia and dissociation. Head MRI revealed right-hemispheric ischemic stroke. The patient was administered aspirin at 150 mg/d. Family history revealed isch-

emic stroke and myocardial infarction in the mother, two transient ischemic attacks (TIA) in one sister and asymptomatic ischemic incidents in another. Further testing revealed the presence of homozygous MTHFR mutation and normal homocysteine levels in the patient, mother and both sisters.

Results and conclusions: The studied case suggests that the homozygous C677T MTHFR mutation in coexistence with other risk factors such as stress and a sedentary lifestyle may have been the cause of venous and arterial thrombosis reported in the patient's family.

P8. CZYNNIKI RYZYKA ZAKRZEPICY ZATOK ŻYLNICH MÓZGU – ANALIZA DANYCH JEDNEGO OŚRODKA

Adela Gwozdowska, Edyta Odnoczek, Beata Baran, Ksenia Bykowska, Jerzy Windyga

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Zakrzepica zatok żylnych mózgu (*cerebral venous sinus thrombosis* – CVST) jest rzadką manifestacją żylną choroby zakrzepowo-zatorowej (*venous thromboembolism* – VTE). Szacowana częstość występowania CVT to 3–4 przypadki na milion. Jednym z potencjalnych czynników ryzyka CVST jest wrodzona i nabyta trombofilia.

Cel: Ocena częstości występowania trombofilii wrodzonej, zespołu antyfosfolipidowego (*antiphospholipid syndrome* – APS) oraz innych nabytych czynników ryzyka VTE u pacjentów po przebytej zakrzepicy naczyń żylnych mózgu.

Materiał i metody: Do chwili obecnej do badania włączono kolejno zgłaszających się 223 chorych (166 kobiet i 57 mężczyzn), w średnim wieku 39 lat (zakres 14–78 lat), z rozpoznaną zakrzepicą zatok żylnych mózgu potwierdzoną badaniem neuroobrazowym, skierowanych do naszego ośrodka w celu poszukiwania hematologicznych przyczyn choroby. Wywiady chorobowe objęły: wiek w chwili wystąpienia CVST i współistnienie nabytych czynników ryzyka VTE (ciąża i połóg, środki antykoncepcyjne, zakażenia, nowotwory złośliwe). U każdego pacjenta wykonano badania w kierunku trombofilii wrodzonej [niedobór białka C, białka S i antytrombiny, mutacja G1691A w genie czynnika krzepnięcia V (factor V Leiden, FVL), mutacja G20210A genu protrombiny] oraz oznaczono przeciwciała antyfosfolipidowe.

Wyniki i wnioski: W 74% przypadków CVST dotyczyła kobiet. U 22% stwierdzono trombofilie wrodzone, u 5% pacjentów rozpoznano APS, poza tym w 0,9% przypadków odnotowano współistnienie trombofilii wrodzonej i APS. Prawie co piąty pacjent miał wcześniej inną manifestację VTE (głównie żył głębokich kończyn dolnych). W 12/14 przypadków (5,4% wszystkich pacjentów) potwierdzono rozpoznanie nowotworu

mieloproliferacyjnego (*myeloproliferative neoplasm* – MPN) z dodatnią mutacją JAK2. W chwili wystąpienia CVST 69/166 (42%) kobiet przyjmowało doustną antykoncepcję, podczas gdy u 25 (15%) CVST wystąpiła w czasie ciąży lub podczas porodu. U 73% pacjentów współistniały inne czynniki ryzyka VTE, a pozytywny wywiad rodzinny VTE stwierdzono u 9% pacjentów. Główne czynniki ryzyka wystąpienia CVST w naszej populacji chorych to wrodzona trombofilia, stosowanie doustnej antykoncepcji oraz okres ciąży i porodu.

PRZEWLEKŁA BIAŁACZKA SZPIKOWA

PRZEWODNICZĄCY: A. HELLMANN (GDAŃSK), T. SACHA (KRAKÓW)

Doniesienia ustne

POSZUKIWANIE NOWYCH ZMIAN GENETYCZNYCH ODPOWIEDZIALNYCH ZA PROGRESJĘ DO KRYZY BLASTYCZNEJ W PRZEBIEGU PRZEWLEKŁEJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ – ANALIZA WIELOGENOWA Z UŻYCIEM SEKWENCJONOWANIA NASTĘPNEJ GENERACJI

Marcin Machnicki¹, Iwona Solarska², Magdalena Zawada³, Ilona Seferińska⁴, Tomasz Sacha⁵, Waldemar Sawicki⁶, Joanna Niesiołbiedzka-Krężel⁷, Barbara Pieńkowska-Grela⁸, Katarzyna Borg², Katarzyna Pruszczyk⁹, Joanna Kosińska¹⁰, Piotr Stawiński¹⁰, Joanna Góra-Tybor⁴, Rafał Płoski¹⁰, Tomasz Skorski¹¹, Tomasz Stokłosa⁹

¹Zakład Immunologii, Studium Medycyny Molekularnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

³Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

⁴Oddział Chorób Układu Krwiotwórczego, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

⁵Katedra i Klinika Hematologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

⁶Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa

⁷Klinika Chorób Wewnętrznych, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁸Zakład Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa

⁹Zakład Immunologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

¹⁰Zakład Genetyki Medycznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

¹¹Department of Microbiology and Immunology, Fels Institute for Cancer Research and Molecular Biology, Temple University, Filadelfia, USA

Wstęp: Przewlekła białaczka szpikowa (PBSz) w fazie ostrej, określanej jako kryza blastyczna (KB), pozostaje wyzwaniem terapeutycznym. Mimo powszechnego stosowania inhibitorów kinaz tyrozynowych (IKT), do progresji z fazy przewlekłej do KB dochodzi u ok. 5% chorych. Odkrycie markerów progresji PBSz mogłoby pomóc w identyfikacji źle rokujących pacjentów i personalizacji leczenia, jednak dotychczas podjęto niewiele prób poszukiwania mutacji somatycznych w PBSz za pomocą metody sekwencjonowania następnej generacji (*next-generation sequencing* – NGS), pomijając analizy mutacji w samym onkogenie BCR-ABL1, odpowiadających za oporność na IKT.

Cel: W celu znalezienia markerów progresji PBSz i/lub oporności na IKT przeprowadzono analizę genetyczną 2 grup pacjentów z PBSz o skrajnie różnym przebiegu choroby. Pierwsza grupa (grupa KB) składała się z 11 pacjentów, u których doszło do progresji PBSz i zgonu, mimo leczenia IKT i/lub przeszczepu szpiku kostnego (1 chory) i bez obecności mutacji w BCR/ABL1; analizowano próbki sparowane, z diagnozy (Dx) PBSz oraz KB. Grupę kontrolną (grupa MMR) stanowiło 36 pacjentów, którzy w ciągu 6 miesięcy od rozpoczęcia leczenia IKT osiągnęli większą odpowiedź molekularną i pozostali w niej przez co najmniej 48 miesięcy od Dx.

Materiał i metody: W analizie wykorzystano metody wzbogacania celowanego (SeqCap EZ, Roche NimbleGen) oraz NGS (Illumina HiSeq1500), uzyskując sekwencje kodujące ponad 1200 genów. Warianty częste w populacji odrzucano, a potencjalnie onkogenne mutacje oceniano za pomocą bioinformatycznych predyktorów (PolyPhen2, SIFT, CHASM itp.) oraz potwierdzano sekwencjonowaniem Sangera.

Wyniki i wnioski: U 10/11 (91%) pacjentów w grupie KB wykryto mutacje w genach, w których mutacje opisano w innych nowotworach mieloidalnych, w szczególności w RUNX1 (36%, 4/11), DNMT3A (27%, 3/11), IDH1/IDH2 (18%, 2/11) i ASXL1 (18%, 2/11), a u 6/11 pacjentów (54%) mutacje te (poza IDH2) były wykrywalne także podczas Dx. U 4 pacjentów wykryto dodatkowe aberracje chromosomowe (2 częste: monosomia 7, trisomia 8). W grupie MMR wykryto nieznaczne mutacje w genach ASXL1 (p. Gly643_Gly644fs u 2/36 pacjentów, co stanowi 5%; ta mutacja została wykryta także w grupie KB u 2 chorych) oraz RUNX1 (p. Arg201Gln, 1/36, 3%, zmiana niewykryta w grupie KB). Uzyskane wyniki wskazują, że znaczna grupa pacjentów z PBSz, u których dochodzi do oporności na IKT i progresji, może mieć w momencie diagnozy mutacje w genach DNMT3A, RUNX1 i IDH1, podczas gdy mutacje ASXL1 występują także u dobrze rokujących pacjentów.

DYNAMIKA ZMIAN DŁUGOŚCI TELOMERÓW W PRZEWLEKŁEJ BIAŁACZCE SZPIKOWEJ – ROLA KOMPLEKSU SZELTERYNY

Anna Deręgowska^{1,2}, Katarzyna Pruszczyk³,
dr Iwona Solarska^{3,4}, Marcin M. Machnicki^{2,3},
Jagoda Adamczyk-Grochala⁵,
dr n. med. Ilona Seferyńska⁶, dr Anna Lewińska⁵,
dr hab. Maciej Wnuk¹, dr n. med. Tomasz Stokłosa³

¹Zakład Genetyki, Uniwersytet Rzeszowski, Rzeszów, Polska

²Studium Medycyny Molekularnej, Warszawa

³Zakład Immunologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

⁴Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

⁵Zakład Biologii Komórki, Uniwersytet Rzeszowski, Rzeszów

⁶Zakład Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Wstęp: Pomimo dużej skuteczności leczenia przewlekłej białaczki szpikowej (PBSz) z wykorzystaniem inhibitorów kinazy tyrozynowej BCR/ABL1 (IKT), istnieje potrzeba dalszych badań nad patogenezą tej choroby, ponieważ u grupy chorych, u których występuje lekooporność, może dojść do progresji do fazy ostrej, zwanej kryzą blastyczną, w której działanie IKT ma ograniczoną skuteczność. W PBSz jedną z cech charakterystycznych choroby jest skracanie się telomerów, skorelowane z progresją choroby, podobnie jak w innych nowotworach. Brakuje jednak informacji na temat podłoża dynamiki zmian długości telomerów w PBSz oraz informacji na temat zaangażowania w ten proces białek kompleksu telomerowego, w tym kompleksu szelteryiny.

Cel: Zbadanie dynamiki zmian długości telomerów w komórkach PBSz, w tym zależności od liczby kopii genu BCR/ABL1, oraz analiza ekspresji kompleksu telomerowego i aktywności telomerazy.

Materiał i metody: Wykorzystano różne linie komórkowe przewlekłej białaczki szpikowej BCR/ABL1-dodatnie: K562, LAMA-84, MEG-A2, MOLM-1, KU-812, oraz komórki ostrej białaczki promielocytarnej BCR-ABL1-ujemnej HL60, a także komórki pierwotne CD34+ od chorych w różnych fazach PBSz (faza przewlekła – CP, faza kryzy blastycznej – BP oraz faza lekooporności na inhibitory kinazy tyrozynowej – IKT-Res). Pomiaru długości telomerów dokonano za pomocą metody Southern Blot oraz metody FISH z sondą PNA. Ekspresję białek kompleksu telomerowego na poziomie mRNA zbadano za pomocą techniki RT-qPCR, a na poziomie białka z wykorzystaniem techniki Western blot. Do pomiaru aktywności telomerazy wykorzystano test immunoenzymatyczny.

Wyniki i wnioski: Potwierdzono, że skracanie telomerów jest pozytywnie skorelowane z progresją PBSz. Wykazano, iż komórki CD34+ pacjentów TKI-Res mają dłuższe telomery niż w fazie CP czy BP. Ponadto wykazano, że dynamika zmian długości telomerów nie jest

związana ani z aktywnością enzymatyczną telomerazy, ani z różną ekspresją jej podjednostek: TERC i TERT, co może wskazywać na fakt występowania zjawiska alternatywnego, takiego jak alternatywne wydłużanie telomerów (ALT). Zaobserwowano zmiany w ekspresji niektórych białek kompleksu telomerowego (porównując fazę CP z BP) oraz potwierdzono, że ich poziom jest pozytywnie skorelowany z ekspresją genu fuzyjnego BCR/ABL1. Podsumowując, postuluje się, że zmiany ekspresji niektórych genów kompleksu szelteryiny mogą być odpowiedzialne za zjawisko ALT i mogą pełnić kluczową rolę w niestabilności genetycznej, a w konsekwencji prowadzić do progresji PBSz oraz oporności na IKT.

PRZYPADKI ZAMASKOWANEGO CHROMOSOMU PHILADELPHIA W PRZEBIEGU PRZEWLEKŁEJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ – BADANIE JEDNOOŚRODKOWE

mgr Błażej Ratajczak,
mgr inż. Anna Przybyłowicz-Chalecka,
mgr inż. Joanna Czerwińska-Rybak,
dr inż. Michał Gniot,
prof. dr hab. Krzysztof Lewandowski,
prof. dr hab. Mieczysław Komarnicki,
dr hab. Małgorzata Jarmuż-Szymczak

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku,
 Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Wstęp: Cytogenetycznym markerem przewlekłej białaczki szpikowej (CML) jest chromosom Philadelphia (Ph) odpowiadający t(9;22)(q34;q11). W literaturze opisano przypadki z tzw. zamaskowanym Ph. Trudności interpretacyjne mogą wynikać ze stosunkowo niskiej rozdzielczości metod cytogenetyki klasycznej lub maskowania defektu przez inną aberrację obecną w karyotypie. Molekularne analizy, w tym fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (FISH), umożliwiają potwierdzenie obecności genu fuzyjnego BCR/ABL1 w przypadku pacjentów Ph-ujemnych.

Cel: Celem pracy była ocena częstości występowania wymienionej aberracji u chorych z CML.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiło 164 pacjentów z CML zdiagnozowanych od 2007 do 2016 r. Leczenie inhibitorami kinaz tyrozynowych (TKI) monitorowano według zaleceń ELN. Analizowano FISH z sondą D-BCR/ABL (Vysis), badanie karyotypowe klasyczną analizą prążkową (GTG) oraz FISH z sondami malującymi (Kreatech) dla potwierdzenia wykrytych zmian w karyotypie.

Wyniki i wnioski: W ocenianej grupie pacjentów zidentyfikowano 5 chorych z zamaskowanym Ph. U 4 z nich wykazano brak chromosomu Ph w karyotypie, przy jednoczesnej obecności nietypowego wzoru hybrydyzacji

w badaniu FISH BCR/ABL. W 2 przypadkach zaobserwowano sygnał fuzyjny na pochodnym chromosomie pary 22, natomiast nie wykryto sygnału BCR na pochodnym chromosomie pary 9, powstającym w wyniku typowej translokacji t(9;22)(q34;q11.2). Wykazano w nich obecność zamaskowanego Ph [insercję genu ABL1(9q34) w BCR(22q11.2)]. U 2 pacjentów sygnał fuzyjny był zlokalizowany na pochodnym chromosomie pary 9 – der(9)t(9;22) [insercja genu BCR w ABL1]. U 1 chorej z insercją ABL1 w BCR w badaniu klasycznym karyotypu stwierdzono dodatkową aberrację obejmującą chromosom płci X (duplikacja regionu q27 do q28) – w analizie FISH sonda malująca pokryła cały nieprawidłowy chromosom X. U pozostałych 3 pacjentów karyotyp był prawidłowy. U 1 pacjentki zaobserwowano inny mechanizm – maskowanie Ph powstałego wskutek typowej translokacji t(9;22) inną translokacją t(7;22). Wszyscy chorzy z insercją odpowiedzieli optymalnie na zastosowane leczenie TKI. Częstość występowania rearanżacji BCR/ABL1 z zamaskowanym Ph w ocenianej grupie wyniosła 3%. Aberracja ta wydaje się nie wpływać na dynamikę odpowiedzi na TKI. Wykrycie insercji ABL1 lub BCR jest możliwe za pomocą techniki FISH. Wykonywanie badań diagnostycznych u chorych z podejrzeniem CML tylko metodami cytogenetyki klasycznej uniemożliwia identyfikację tego typu zmian.

Introduction: The cytogenetic marker of chronic myeloid leukemia (CML) is the Philadelphia chromosome (Ph) corresponding to t(9;22)(q34; q11). At diagnosis, about 5% of CML patients lacks Ph, despite the presence of the BCR/ABL rearrangement (cryptic or masked Ph). Relatively low resolution of classical cytogenetics or the masking of defects by other aberrations present in karyotype may cause the interpretation problems. In such cases more detailed molecular analyses with a help of FISH and/or NGS is recommended.

Aim: The aim of the study was to determine frequency of masked or cryptic Ph chromosome in cohort of patients diagnosed in our center.

Material and methods: The study group comprised 164 CML patients diagnosed between 2007 and 2016. Treatment with tyrosine kinase inhibitors (TKIs) was monitored according to ELN guidelines. FISH was analyzed with D-BCR/ABL (Vysis) probe, karyotypic classical analysis (GTG), and FISH with Kreatech whole painting chromosome probes to confirm detected karyotype changes.

Results and conclusions: Five patients with masked Ph were identified in the group of patients. Four of them demonstrated the absence of the Ph chromosome in the karyotype, with the simultaneous presence of atypical hybridization in the FISH BCR/ABL study. In 2 cases, a fusion signal was detected on the derivative chromosome 22, but no BCR signal was detected on the derivative chromosome 9 resulting from the typical translocation t(9;22)(q34;q11.2). They show the presence of the masked ABL1 gene insertion (9q34) in the BCR (22q11.2). In 2 patients, the fusion signal

was localized on the chromosome 9 – der(9)t(9;22) derivative of the BCR gene insertion [insert ABR1 in BCR gene]. In 1 patient with ABL1 insertion in BCR in the classic karyotype, additional chromosome aberration was found in the X chromosome (duplication of region q27 to q28). In the FISH analysis, whole painting probe covered the whole abnormal X chromosome. In the remaining 3 patients, the karyotype was normal. Another mechanism was observed in 1 patient – masking Ph resulting from a typical translocation t(9;22) with another translocation t(7;22). Occurrence of BCR/ABL1 rearrangement with masked or cryptic Ph in the assessed group was 3%. The presence of aberration does not seem to affect the dynamics and character of response to TKI. Performing diagnostic tests in patients with suspected CML only by means of classical cytogenetics makes it impossible to identify such changes.

CZY PRZEWLEKŁA BIAŁACZKA SZPIKOWA MOŻE BYĆ ULECZALNA? – OBSERWACJE WŁASNE PO ODSZTAWIENIU LECZENIA

**dr n. med. Ewa Wasilewska¹,
dr hab. Barbara Panasiuk², dr Michał Gniot³,
dr Radosław Charkiewicz⁴, mgr Anna Sawicka²,
mgr Katarzyna Kozłowska¹,
prof. Krzysztof Lewandowski³, prof. Jacek Nikliński⁴,
prof. Alina Midro², prof. Janusz Kłoczko¹**

¹Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

²Zakład Genetyki Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

³Pracownia Biologii Molekularnej Katedry i Kliniki Hematologii i Chorób Rozrostowych Układu Krwiotwórczego, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

⁴Zakład Klinicznej Biologii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Wstęp: Przed wprowadzeniem do leczenia inhibitorów kinazy tyrozynowej (IKT) przewlekła białaczka szpikowa była uznawana za chorobę nieuleczalną, śmiertelną. Ostatnie doniesienia przekonują, że u części pacjentów głęboka remisja molekularna może utrzymywać się mimo odstawienia leczenia. Obecnie brakuje jednoznacznych wytycznych odnośnie do zakończenia terapii IKT, jednak u niektórych chorych dochodzi do przerwania leczenia z różnych przyczyn.

Cel: Celem badań była ocena odpowiedzi hematologicznej, cytogenetycznej i molekularnej u pacjentów leczonych inhibitorami kinazy tyrozynowej, a także interferonem alfa, u których z różnych powodów doszło do przerwania leczenia IKT na okres dłuższy niż 6 miesięcy.

Materiał i metody: Materiał do badań stanowiły próbki szpiku i krwi obwodowej pochodzące od czterech pacjentów z CML, u których odstawiono leczenie IKT bądź interferonem. U chorych oceniano odpowiedź hematologiczną i molekularną po odstawieniu leczenia.

Analizowano wartości wskaźników rokowniczych przy rozpoznaniu, czas leczenia pierwszej i drugiej linii, czas utrzymywania się większej odpowiedzi molekularnej (MMR) do momentu odstawienia leków oraz po zaprzestaniu leczenia.

Wyniki i wnioski: Chorzy w momencie rozpoznania byli w fazie przewlekłej choroby. Trzech chorych leczonych było w pierwszej linii imatinibem (IM), jedna interferonem. Czas leczenia IM wynosił 8 lat jako jedyna linia leczenia u jednej chorej; 2 lata u chorych, którzy przeszli na leczenie drugiej linii. U dwóch chorych czas leczenia drugiej linii wynosił 7 lat w przypadku dasatynibu i 9 lat w przypadku nilotinibu. Czwarta chora była leczona tylko interferonem alfa przez 10 lat. Czas utrzymywania się MMR do momentu zaprzestania leczenia u czterech chorych wynosił od 6 do 7 lat. Leczenie odstawiono z powodu: ciężkiego stanu ogólnego w przebiegu zapalenia płuc z obecnością ropni i niewydolnością oddechową wymagającą leczenia na oddziale intensywnej terapii (chora nr 1); ciężkiej niewydolności oddechowej związanej z wysiękowym zapaleniem opłucnej (chory nr 2), udaru mózgu (chora nr 3) i zaburzeń neurologicznych (chora nr 4). Większa odpowiedź molekularna utrzymuje się u tych chorych w chwili obecnej od 8 do 15 miesięcy od odstawienia leczenia.

Wnioski: Z obserwacji wynika, że u chorych z CML z różnych powodów może dojść do przerwania leczenia IKT. U chorych z głęboką odpowiedzią molekularną może ona utrzymywać się mimo zaprzestania terapii.

Plakaty

P1. IDENTYFIKACJA NOWYCH MUTACJI W GENACH ZWIĄZANYCH Z ONKOGENEZĄ W LUDZKIEJ LINII KOMÓRKOWEJ K562 MODELU KRYZY BLASTYCZNEJ PRZEWLEKŁEJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ ZA POMOCĄ SEKWENCJONOWANIA NASTĘPNEJ GENERACJI

**Monika Pępek¹, Małgorzata Kurkowiak²,
Marcin Machnicki¹, Iwona Solarska²,
Katarzyna Borg², Małgorzata Rydzanicz³,
Piotr Stawiński³, Rafał Płoski³, Tomasz Stokłosa¹**

¹Zakład Immunologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa Studium Medycyny Molekularnej

²Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

³Zakład Genetyki Medycznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

Wstęp: Przewlekła białaczka szpikowa (PBSz) jest spowodowana zrównoważoną translokacją t(9;22), skutkującą powstaniem chromosomu Filadelfia z genem fuzyjnym BCR-ABL1. Jednym z najczęściej używanych modeli *in vitro* do badań nad PBSz jest linia komórkowa K562, wyprowadzona z komórek pacjenta będącego w kryzie blastycznej. Pomimo dokładnie scharakteryzo-

wanego kariotypu linii K562 brakuje publikacji ze szczegółową analizą genomu tej linii komórkowej.

Cel: Celem pracy było określenie statusu mutacyjnego wybranych genów linii K562 przy użyciu sekwencjonowania następnej generacji (*next-generation sequencing* – NGS). Dodatkowo, za pomocą techniki fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) postanowiono potwierdzić liczbę kopii genu BCR-ABL1.

Materiał i metody: Linia komórkowa K562 została zakupiona w banku komórek DSMZ (Braunschweig, Niemcy). Analizę mutacji sekwencji kodujących ponad 1200 genów związanych z hematopoezą i onkogenezą przeprowadzono za pomocą wzbogacania celowanego (SeqCap EZ Choice™, NimbleGen, Roche), a następnie NGS (Illumina HiSeq1500). Warianty częste w populacji (> 1%) odrzucano, a potencjalnie onkogenne mutacje oceniano za pomocą bioinformatycznych predyktorów (PolyPhen2, SIFT, CHASM itp.). Wykryte mutacje potwierdzono za pomocą sekwencjonowania metodą Sangera. Technikę FISH wykonano, wykorzystując komercyjnie dostępną sondę (Vysis, Abbott, USA) identyfikującą gen fuzyjny BCR-ABL1.

Wyniki i wnioski: Analiza wykazała obecność 88 wariantów o potencjalnym znaczeniu biologicznym. Wykryto zarówno znaną już mutację w komórkach K562 w genie TP53 (p.Q136fs*13), jak i kilka nowych, dotychczas nieopisanych mutacji w genach związanych z onkogenezą i lekoopornością, z których najistotniejsze są: ASXL1 (p.Y591*), MLH1 (p.K175fs), BIRC6 (p.A3622V) i BRCA1 (p.I540V). Ponadto, nie potwierdzono opisanej uprzednio mutacji w CDKN2A, co jest spowodowane najprawdopodobniej delecją tego genu (brak pokrycia w NGS). Analiza cytogenetyczna wykazała kilkakrotnie (2-4) zwiększoną liczbę kopii genów BCR, ABL1 oraz BCR-ABL1. Przeprowadzona analiza linii komórkowej K562 ujawniła nowe mutacje somatyczne w genach związanych z onkogenezą. Otrzymane wyniki wykazują niestabilność genomową linii K562, co potwierdza to zjawisko w kryzysie blastycznej PBSz. Wiedza o nowo wykrytych mutacjach może stanowić wskazówkę dla naukowców wykorzystujących linię K562 w swoich badaniach, z uwagi na możliwy wpływ aberracji na obserwowane wyniki.

białaczek poniżej 15. roku życia, a w wieku 15–19 lat – 9%. Jest pierwszą białaczką, w której zastosowano leczenie celowane. Inhibitory kinazy tyrozynowej są dobrze tolerowane przez pacjentów, pozwalają na uzyskanie remisji, ale leki trzeba przyjmować przez całe życie.

Cel: Prezentujemy doświadczenia naszego ośrodka w leczeniu dzieci z CML.

Materiał i metody: W latach 2007–2017 CML rozpoznano w naszej klinice u 11 pacjentów (2 dziewczynki i 9 chłopców) w wieku 1–16 lat. Dzieci poniżej 15. roku życia stanowiły 64% (7 dzieci), a dzieci w wieku 15–16 lat 36% (4 dzieci) grupy badanej. Wszyscy pacjenci w chwili diagnozy mieli fazę przewlekłą (CP) choroby. W celu ustalenia rozpoznania, a później monitorowania leczenia wykonano ocenę rozmazu krwi obwodowej, biopsję aspiracyjną i trepanobiopsję szpiku, ocenę kariotypu metodą klasyczną i FISH oraz BCR/ABL metodą RQ-PCR. Wszyscy chorzy mieli potwierdzoną w badaniu cytogenetycznym metodą klasyczną obecność BCR/ABL i dodatkowo jeden EVI, który jest złym czynnikiem rokowniczym. Leczenie prowadzono za pomocą imatinibu w dawce 300 mg/m² p.c./dobę. Odpowiedź monitorowano, wykonując badania morfologii krwi obwodowej, cytogenetyczne i FISH ze szpiku co 3 miesiące od wdrożenia leczenia do czasu uzyskania całkowitej remisji cytogenetycznej (CCyR) oraz RQ-PCR BCR/ABL też co 3 miesiące.

Wyniki i wnioski: Wszyscy pacjenci uzyskali większą odpowiedź cytogenetyczną (MCyR) maksymalnie do 1 roku od rozpoczęcia leczenia, a 55% (6/11 dzieci) do 3 miesięcy od pierwszej dawki imatinibu. CCyR uzyskało 45% (5/11) leczonych w czasie 3–27 miesięcy. Większą odpowiedź molekularną (MMoIR) uzyskało 82% (9/11) najwcześniej w 12. miesiącu od włączenia imatinibu. Pacjent z obecnością EVI wyeliminował tę nieprawidłowość po roku terapii i osiągnął MMoIR po 2 latach leczenia. Dwóch pacjentów skarżyło się na bóle kończyn oraz bóle głowy w czasie leczenia, które ustąpiły po ok. 6–9 miesiącach i tylko w jednym przypadku wymagały modyfikacji dawki imatinibu. Żaden z obserwowanych pacjentów nie transformował w ostrą białaczkę szpikową. Po latach obserwacji możemy stwierdzić, że imatinib jest skutecznym i dobrze tolerowanym lekiem u dzieci z CML.

P2. PRZEWLEKŁA BIAŁACZKA SZPIKOWA U DZIECI – 10-LETNIE DOŚWIADCZENIA JEDNEGO OŚRODKA

dr n. med. Katarzyna Pawelec,
lek. med. Katarzyna Grzeszkiewicz,
prof. dr hab. med. Michał Matysiak

Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii,
Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

Wstęp: Przewlekła białaczka szpikowa (CML) to rzadka choroba nowotworowa u dzieci. Stanowi 2% wszystkich

P3. IMMUNOMODULACYJNE DZIAŁANIE INHIBITORÓW KINAZY TYROZYNOWEJ BCR-ABL

dr med. Paweł Jarosz, dr hab. n. med. Maria Cioch,
dr med. Dariusz Jawniak, dr n. biol. Aneta Gorący,
dr med. Małgorzata Wach,
dr hab. n. med. Ewa Wąsik-Szczepanek,
dr hab. n. med. Marek Hus

Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: W ciągu kilkunastu lat stosowania inhibitorów kinazy tyrozynowej BCR-ABL (*tyrosine kinase inhibitors* – TKI) u chorych na przewlekłą białaczkę szpikową (*chronic myeloid leukemia* – CML) w znaczący sposób poszerzyła się wiedza dotycząca nie tylko ich skuteczności, ale także związanych z nimi działań niepożądanych. Ostatnio szczególne zainteresowanie budzi wpływ TKI na układ immunologiczny i rozwój różnych fenomenów klinicznych, np. limfocytozy i wysięgu opłucnej.

Cel: Celem pracy było wykazanie wpływu trzech obecnie stosowanych TKI: imatynibu, nilotynibu i dazatynibu, na liczebność różnych populacji limfocytów, a także na odpowiedź na leczenie oraz występowanie efektów ubocznych o charakterze immunologicznym.

Materiał i metody: Badania wykonano u 37 chorych (12 K i 25 M; mediana wieku 48,5 roku) na CML, w tym u 17 leczonych imatynibem, 10 nilotynibem i 10 dazatynibem. Warunkiem uczestniczenia w badaniu było przyjmowanie danego TKI przez co najmniej 3 miesiące. Grupa kontrolna liczyła 23 zdrowe osoby. Metodą cytometrii przepływowej we krwi żyłnej określono odsetek i liczbę limfocytów B, T pomocniczych (Th), T supresorowych (Ts), T regulatorowych (Treg), komórek NK i NKT.

Wyniki i wnioski: Badania wykazały znamienne większą liczbę limfocytów we krwi u chorych leczonych dazatynibem. W grupie chorych leczonych TKI stwierdzono znamienne niższy odsetek limfocytów B w porównaniu z grupą kontrolną ($p = 0,00026$), przy czym najniższe wartości prezentowali chorzy leczeni nilotynibem i dazatynibem. Nie stwierdzono istotnych statystycznie zmian w odsetku populacji Th, Ts, i NKT. Chorzy na CML charakteryzowali się znamienne niższym odsetkiem limfocytów Treg, przy czym najniższe wartości występowały u chorych przyjmujących dazatynib ($p = 0,00056$). U chorych leczonych TKI stwierdzono znamienne wyższy odsetek komórek NK w porównaniu z grupą kontrolną; najwyższy odsetek prezentowali chorzy leczeni dazatynibem. Wykazano także pozytywną zależność między występowaniem limfocytozy, wysięgu opłucnej a uzyskaniem odpowiedzi molekularnej. Badania chorych na CML wykazały wpływ TKI na liczebność subpopulacji limfocytów, co przekłada się na występowanie działań niepożądanych, a także odpowiedź na leczenie. W celu potwierdzenia naszych wstępnych wniosków konieczne jest przeprowadzenie badań w większej grupie pacjentów.

P4. COMPARISON OF DROPLET DIGITAL PCR AND QUANTITATIVE PCR FOR BCR/ABL1 TRANSCRIPT QUANTIFICATION IN CML PATIENTS

mgr Łukasz Madej¹, dr Artur Kowalik¹,
mgr inż. Joanna Kalisz¹,
mgr Renata Chodurska¹, dr Ewa Wasińska²,
prof. Marcin Pasiarski², prof. Stanisław Góźdz^{3,4}

¹Zakład Diagnostyki Molekularnej, Świętokrzyskie Centrum Onkologii Samodzielny Publiczny Zakład Opieki Zdrowotnej, Kielce

²Klinika Hematologii i Transfuzjologii, Świętokrzyskie Centrum Onkologii Samodzielny Publiczny Zakład Opieki Zdrowotnej, Kielce

³Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Kielce

⁴Klinika Onkologii Klinicznej, Świętokrzyskie Centrum Onkologii Samodzielny Publiczny Zakład Opieki Zdrowotnej, Kielce

Introduction: Monitoring BCR/ABL1 fusion transcript by reverse transcription quantification polymerase chain reaction (RT-qPCR) is clinically useful diagnostic test recommended by The European LeukemiaNet (ELN) and National Comprehensive Cancer Network (NCCN) to determine minimal residual disease level in CML. RT-qPCR has some detection and quantification limits. Quantification of nucleic acid is based on using varying dilution of calibrators a necessary to graph a standard curve, and has a few negative effects. The exact amount of material carried by the calibration is determined by independent means by spectrophotometry or intercalating dye. The use of calibrators requires the test run for the reference gene and tested gene in a separate experiments. These effects associated with RT-qPCR cause significant difficulties with internal and interlaboratory standardization. Reverse transcription droplet digital PCR (RT-ddPCR) method based on absolute nucleic acid quantification doesn't need external calibrators.

Aim: Comparison of droplet digital PCR and quantitative PCR for BCR/ABL1 transcript quantification in CML patients.

Material and methods: To compare two methods RT-qPCR and RT-ddPCR we tested 255 samples collected from patients with CML. Samples were tested in parallel using both mentioned methodologies.

Results and conclusions: Considering quantification of transcript level a total number of samples tested by RT-qPCR and RT-ddPCR were classified into 3 group regarding to definition of remission (ELN). 46 of 93 (49.46%) samples which had undetectable transcript BCR-ABL1 level (0.0000%) tested by RT-qPCR, in RT-ddPCR exhibit detectable transcript level. Generally our result shows that 43/255 (18.04%) of samples tested by RT-ddPCR should be reclassified to the group "loss of complete hematologic response", which suggests tyrosine kinase inhibitor resistance. In conclusion our result indicate that RT-ddPCR is more

sensitivity method than RT-qPCR and may be preferred BCR-ABL1 transcript quantification method for diagnostic purposes especially in the era of stopping TKI treatment.

P5. PRZEWLEKŁA BIAŁACZKA SZPIKOWA PO PRZESZCZEPNIENIU KRWIOTWÓRCZYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH OD DAWCY Z NIEROZPOZNANĄ PRZEWLEKŁĄ BIAŁACZKĄ SZPIKOWĄ I GRANICZNĄ LEUKOCYTOZĄ

Miłosz Kawa¹, Bartłomiej Baumert¹, Zofia Litwińska¹, Michał Gniot², Ewa Pius-Sadowska¹, Dorota Rogińska¹, Krzysztof Lewandowski², Barbara Zdziarska³, Bogusław Machaliński¹

¹Zakład Patologii Ogólnej, Pomorski Uniwersytet Medyczny, Szczecin

²Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań

³Klinika Hematologii i Transplantologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny, Szczecin

Wstęp: Potencjalnym powikłaniem terapii z wykorzystaniem komórek macierzystych lub transplantacji narządów jest rozwój choroby nowotworowej u biorców w wyniku przeniesienia komórek nowotworowych od dawcy. Fakt częstszego występowania nowotworów złośliwych *de novo* po transplantacji, które pojawiają się w przebiegu terapii immunosupresyjnej, upośledzającej nadzór immunologiczny, jest dobrze znany. Natomiast problem kliniczny przeniesienia komórek nowotworowych, takich jak komórki przewlekłej białaczki szpikowej (PBSz), od dawcy do biorcy pozostaje niecałkowicie zrozumiany. Dotychczas opisano kilka przypadków rozwoju PBSz po transplantacji narządów, głównie u pacjentów, którzy otrzymali przeszczepy nerki. Zbadanie tego zagadnienia dodatkowo utrudnia fakt występowania genu fuzyjnego BCR-ABL1 u zdrowych osób.

Cel: Wykonane badanie eksperymentalne w modelu mysim miało na celu ocenę potencjału ludzkich komórek PBSz do zagnieżdżania się w tkankach hematopoetycznych po podaniu dożylnym.

Materiał i metody: Komórki krwi obwodowej pobrane od pacjentów z rozpoznaną PBSz przed leczeniem, prezentujących umiarkowanie podwyższoną leukocytozę, przeszczepiono subletalnie napromienionym myszom szczepu NGS. Następnie pięć tygodni po transplantacji wyizolowano komórki jądrowe z mysiego szpiku kostnego, śledzony oraz krwi obwodowej i wykorzystano do ilościowego oznaczania ludzkiego antygenu CD45 za pomocą cytometrii przepływowej. Dodatkowo zastosowano technikę qRT-PCR do wykrywania genu fuzyjnego BCR-ABL1 i ludzkiego lub mysiego

genu beta-glukuronidazy (tzw. *housekeeping gene*) w celu zbadania chimeryzmu potransplantacyjnego.

Wyniki i wnioski: Wszystkie oceniane zwierzęta wykazywały chimeryzm komórkowy w wybranym punkcie czasowym po transplantacji. U badanych myszy wykryto ponadto obecność specyficznego transkryptu genu fuzyjnego BCR-ABL1. Uzyskane wyniki sugerują, że nie można wykluczyć ryzyka przeniesienia nowotworu podczas przeszczepienia narządu od dawcy z nierozpoznaną PBSz. Otrzymane dane potwierdzają potencjał komórek białaczkowych do realnego wszczepienia w narządy krwiotwórcze po transplantacji narządu do biorcy poddanego immunosupresji. W świetle uzyskanych danych wydaje się zasadne rozważenie wykrywania onkogenu BCR-ABL1 w tkance ludzkiej przeznaczonej do przeszczepienia jako dodatkowego, rutynowo badanego parametru molekularnego. PBSz jest często bezobjawowa w fazie przewlekłej i może pozostać nierozpoznana podczas kwalifikacji dawcy do przeszczepu wielonarządowego.

P6. NIETYPOWE TRANSKRYPTY BCR-ABL W PRZEWLEKŁEJ BIAŁACZCE SZPIKOWEJ – WYSTĘPOWANIE, MONITOROWANIE I LECZENIE NA PODSTAWIE OBSERWACJI WŁASNYCH

dr Ewa Wasilewska¹, dr Radosław Charkiewicz², dr hab. Barbara Panasiuk³, dr Michał Gniot⁴, prof. Krzysztof Lewandowski⁴, prof. Janusz Kłoczko¹, prof. Alina T. Midro³, prof. Jacek Nikliński²

¹Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

²Zakład Klinicznej Biologii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

³Zakład Genetyki Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

⁴Pracownia Biologii Molekularnej Katedry i Kliniki Hematologii i Chorób Rozrostowych Układu Krwiotwórczego, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Wstęp: Mechanizm molekularny rozwoju przewlekłej białaczki szpikowej (*chronic myeloid leukemia* – CML) jest związany z powstaniem chromosomu Filadelfia, a więc genu fuzyjnego BCR-ABL. U większości chorych stwierdza się typowe warianty transkryptyczne – e13a2 i e14a2. W rzadkich przypadkach wykrywa się nietypowe transkrypty BCR-ABL z połączeniami typu b2a3 lub b3a3. Nietypowe transkrypty, pomimo mniejszej liczby eksonów, nadal warunkują właściwości onkogenne i podwyższoną aktywność kinazy tyrozynowej. Funkcjonujące standardy dotyczące wykonywania badań molekularnych w przebiegu CML nie wskazują jednoznacznie metody umożliwiającej precyzyjną ocenę poziomu ekspresji nietypowych zaburzeń genu fuzyjnego BCR-ABL.

Cel: Celem badań była próba oszacowania częstości występowania oraz ocena sposobów skutecznego monitorowania chorych na CML z nietypowymi transkryptami BCR-ABL.

Materiał i metody: Materiał do badań stanowiła krew obwodowa lub szpik kostny pochodzący od 114 pacjentów z CML, leczonych w latach 2002–2017, u których za pomocą badania RT-PCR potwierdzono obecność BCR-ABL, a badaniem cytogenetycznym translokację t(9;22).

Wyniki i wnioski: U większości pacjentów stwierdzono obecność typowych transkryptów BCR-ABL. U 3 chorych wykryto transkrypty nietypowe, które stanowiły ~2,6% wszystkich przypadków. U chorego nr 1 stwierdzono transkrypt BCR-ABL – e13a3 (b2a3). W badaniu cytogenetycznym złożony kariotyp 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[3]/46,sl,t(2;4)(q3;p1)[43]/47,sdl1,+8[2/48,sdl2,+der(22)t(9;22)[1]/46,XY[4]. Chory otrzymał leczenie imatinibem. Po 2 latach leczenia chory pozostaje w remisji hematologicznej i cytogenetycznej. U chorego nr 2 wykryto transkrypt, który zawierał 150 pz więcej niż typowy transkrypt e14a2 (b3a2), dodatkowo ekson 15 BCR oraz 52 nukleotydy z eksonu 16. Chory po 6 miesiącach leczenia uzyskał CCYR, która trwa do chwili obecnej. U chorego nr 3 stwierdzono nietypowy transkrypt e143 (b3a3). W badaniu cytogenetycznym stwierdzono wariant translokacyjny Ph – 46,XY,t(6;9;22)(p21.3;q34.1;q11.2)[50]. Obecnie pacjent pozostaje w remisji hematologicznej, cytogenetycznej i molekularnej.

Wnioski: Na podstawie obserwacji własnych można przypuszczać, że w Polsce liczba nietypowych transkryptów BCR-ABL może sięgać nawet kilkudziesięciu przypadków. Wydaje się, że nowoczesna technika emulsyjnego PCR, która jest niezwykle czuła, może okazać się skuteczną metodą ilościowej oceny nietypowych wariantów BCR-ABL, co być może pozwoli na szybsze reagowanie i modyfikację terapii przy niepowodzeniu leczenia.

gnoszonych w naszym ośrodku w ciągu ostatnich 40 lat, aby ocenić, czy wnioski z badań klinicznych są zachowywane w praktyce klinicznej.

Materiał i metody: Analizie retrospektywnej poddano dokumentację medyczną 171 (90 mężczyzn, 81 kobiet) kolejnych nieselekcjonowanych chorych na PBSz w wieku od 16 do 79 lat rozpoznanych w naszej Klinice w okresie od stycznia 1975 r. do lipca 2015 r. W momencie rozpoznania 161 chorych było w fazie przewlekłej, 4 w fazie akceleracji i 6 w fazie kryzy blastycznej PBSz. W okresie analizy wielu chorych leczono różnymi metodami podczas przebiegu choroby. Dominującą terapią dla 19 pacjentów był busulfan (Bu), dla 36 hydroksymocznik (HM), dla 24 przeszczepienie alogeniczne komórek krwiotwórczych (allo-HCT) oraz dla 121 inhibitory kinaz tyrozynowych (TKIs). Wszyscy analizowani chorzy leczeni TKIs rozpoczynali od terapii imatinibem, a w przypadku jego nietolerancji lub oporności otrzymywali terapię dasatynibem i/lub nilotynibem.

Wyniki i wnioski: Całkowity czas przeżycia wszystkich 171 chorych na PBSz wyniósł od 1 do 229 miesięcy. W czasie zakończenia analizy żyło 62% pacjentów, a 38% zmarło. W każdej kolejnej grupie nieselekcjonowanych chorych całkowite przeżycie było lepsze niż w poprzedniej (mediana przeżycia dla Bu, HM, allo-HCT i TKIs wyniosły odpowiednio 30, 40, 47 i 67 miesięcy). W latach 2004–2007 nastąpiła zasadnicza poprawa w zakresie przeżywalności pacjentów z PBSz. Najlepsze całkowite przeżycie stwierdzono w grupie chorych leczonych TKIs, w tym największą rewolucyjną zmianę spowodowało wprowadzenie imatinibu (w momencie zakończenia obserwacji żyło 81% chorych leczonych tym inhibitorem).

Wnioski: Inhibitory kinaz tyrozynowych doprowadziły do zasadniczej poprawy wyników leczenia PBSz w ostatnich latach. Najlepsza poprawa przeżycia wystąpiła w latach 2004–2007 i wynikała z wprowadzenia imatinibu. Ani allo-HCT, ani wprowadzenie TKIs drugiej generacji nie doprowadziły do tak zasadniczych zmian. Mimo ogromnego postępu w leczeniu PBSz nadal są chorzy, którzy umierają z jej powodu, mimo wykorzystania wszystkich dostępnych metod leczniczych. Dla tych pacjentów potrzebne są nowe możliwości lecznicze.

P8. OCENA PRZEŻYCIA CHORYCH NA PRZEWLEKŁĄ BIAŁACZKĘ SZPIKOWĄ W CIĄGU OSTATNICH 40 LAT – ANALIZA JEDNOOŚRODKOWA

Patrycja Rusicka, Joanna Niesiołbódzka-Krężel,
Wiesław Wiktor Jędrzejczak

Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

Wstęp: Nieleczona przewlekła białaczka szpikowa (PBSz) prowadzi do śmierci przeciętnie w ciągu 3 lat. Leczenie tej choroby ewoluowało znacząco w ciągu ostatnich lat.

Cel: Celem tego badania była analiza ewolucji całkowitego przeżycia wszystkich pacjentów z PBSz z dia-

CYTOPENIE

PRZEWODNICZĄCY: J. BOŁKUN
(BIAŁYSTOK), M. MACHACZKA
(RZESZÓW; SZTOKHOLM, SZWECJA)

Doniesienia ustne**PODWYŻSZONE STĘŻENIE**

**β_2 -MIKROGLOBULINY W SUROWICY
JEST CZĘSTO STWIERDZANE W CHWILI
ROZPOZNANIA LIMFOHISTIOCYTOZY
HEMOFAGOCYTARNEJ U OSÓB
DOROSŁYCH Z NOWOTWORAMI
HEMATOLOGICZNYMI**

dr Egle Sumskiene¹, mgr Maja Wolan²,
prof. Maciej Machaczka²

¹Hematology Center Karolinska, Karolinska University
Hospital, Stockholm, Sweden

²Wydział Medyczny, Uniwersytet Rzeszowski

Wstęp: Limfohistiocytoza hemofagocytarna (*hemophagocytic lymphohistiocytosis* – HLH), zwana także zespołem hemofagocytarnym (*hemophagocytic syndrome*), jest ostrym, zagrażającym życiu chorego zaburzeniem immunoregulacji prowadzącym do wygórowanego odczynu zapalnego. Niekontrolowana aktywacja i proliferacja cytotoksycznych limfocytów T oraz makrofagów powoduje, na zasadzie błędnego koła, nadmierne uwalnianie różnych cytokin – mediatorów zapalenia. HLH może być wywołana przez różne czynniki wrodzone i nabyte. U osób dorosłych, obok zakażeń i chorób autoimmunologicznych, nowotwory (zwłaszcza hematologiczne) są najczęstszym czynnikiem usposabiającym do wystąpienia HLH. β_2 -mikroglobulina (β_2M), będąca lekkim łańcuchem (11,8 kDa) receptora MHC klasy I, odgrywa istotną rolę w prezentacji antygenów oraz regulacji procesów immunologicznych nowotworu. Podwyższone stężenia β_2M obserwuje się u chorych na chłoniaki oraz szpiczaka plazmocytozowego. Ponadto uważa się, że β_2M jest markerem aktywacji limfocytów T, które odgrywają ważną rolę w patogenezie HLH.

Cel: Określenie stężenia β_2M w surowicy w chwili rozpoznania HLH zależnej od nowotworów hematologicznych (*hematologic malignancy-associated HLH* – hM-HLH) u osób dorosłych. Podjęcie próby interpretacji znaczenia stężenia β_2M w surowicy chorych na hM-HLH w kontekście innych kryteriów diagnostycznych wg HLH-2004.

Materiał i metody: U 31 dorosłych pacjentów z hM-HLH (22 mężczyzn, 9 kobiet) w wieku 28–84 lat (średnia i mediana wieku 61 lat) wykonano oznaczenie stężenia β_2M w surowicy krwi (ref.: < 2,0 mg/l) w chwili stwierdzenia HLH. Rozpoznanie HLH oparto

o kryteria diagnostyczne według wytycznych *The Histiocyte Society* (HLH-2004), w tym oznaczenie sIL-2R α (sCD25). U pacjentów nie oceniano aktywności komórek NK. Każdy z analizowanych 31 chorych spełniał co najmniej 4 z 7 kryteriów określonych wg HLH-2004. Nowotworową chorobę hematologiczną określono jako nowotwór o pochodzeniu limfatycznym lub szpikowym. Odpowiednie dane kliniczne i laboratoryjne zostały zebrane z elektronicznych historii choroby systemu Take Care.

Wyniki i wnioski: U wszystkich analizowanych pacjentów (31/31; 100%) stwierdzono podwyższenie stężenia β_2M w surowicy w chwili rozpoznania hM-HLH. Uzyskane wartości stężenia β_2M mieściły się w zakresie 2–17 mg/l, średnio 5,3 mg/l (mediana 4,2 mg/l). Uzyskane wyniki sugerują potencjalną rolę β_2M jako markera aktywności HLH u dorosłych pacjentów. Ponadto stwierdzenie podwyższonego stężenia β_2M w surowicy może wzmocnić podejrzenie kliniczne HLH.

Introduction: Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH), also referred to as hemophagocytic syndrome, is an acute and life-threatening disorder of immune regulation which leads to an exaggerated inflammation. The uncontrolled activation and proliferation of cytotoxic T-lymphocytes and macrophages causes, on a vicious circle, the excessive release of various cytokines – inflammatory mediators. HLH can be triggered by various inherited and acquired factors. In adults, infections, autoimmune diseases, and cancers (especially haematological) are the most common triggers of HLH. β_2 -microglobulin (β_2M), which is a light chain (11.8 kDa) of the MHC class I receptor, plays an important role in antigen presentation and regulation of tumor immunological processes. Elevated levels of β_2M are observed in patients with lymphoma and myeloma. Moreover, it is believed that β_2M is a marker of T cell activation, an important phenomenon in the pathogenesis of HLH.

Aim: To determine a serum β_2M concentration in hematologic malignancy-associated HLH (hM-HLH) diagnosed in adults. An attempt to interpret the significance of serum β_2M concentration in patients with hM-HLH in the context of other diagnostic criteria according to HLH-2004.

Material and methods: Serum β_2M concentration was measured (ref.: < 2.0 mg/L) in 31 adult patients (22 men and 9 women; aged 28-84 years; median and median age 61 years) at the time of diagnosis of hM-HLH. HLH diagnosis was based on diagnostic criteria according to The Histiocyte Society guidelines (HLH-2004), including sIL-2R α (sCD25). NK cell activity was not assessed. Each of the analyzed 31 patients met at least 4 out of 7 HLH-2004 criteria. Hematological malignancy was defined as a neoplasm of lymphoid or myeloid origin. Relevant clinical and laboratory data have been collected from the electronic patient history system.

Results and conclusions: Elevated serum concentration of $\beta 2M$ was disclosed in all studied patients (31/31; 100%) at the time of hM-HLH diagnosis. The obtained values of $\beta 2M$ concentration ranged between 2-17 mg/L, mean 5.3 mg/L (median 4.2 mg/L). Our results suggest a potential role of $\beta 2M$ as a marker of HLH activity in adult patients. Moreover, an elevated concentration of serum $\beta 2M$ may strengthen a clinical suspicion of HLH.

ZESPÓŁ HEMOFAGOCYTOWY U DOROSŁYCH PACJENTÓW W POLSCE – NA PODSTAWIE KRAJOWEJ BAZY DANYCH HLH PRZY PALG

lek., mgr biol. Rafał Machowicz¹,
dr n. med. Anna Waszczuk-Gajda¹,
lek. Magdalena Witkowska²,
dr n. med. Agnieszka Piekarska³,
dr n. med. Piotr Boguradski¹,
prof. dr hab. n. med. Piotr Smolewski²,
dr hab. n. med. Wanda Knopińska-Posłuszny⁴,
dr n. med. Edyta Cichocka⁵,
dr hab. n. med. Małgorzata Razny⁶,
dr n. med. Wojciech Sydor⁷, lek. Michał Górka¹,
dr n. med. Joanna Drozd-Sokołowska¹,
dr n. med. Bartosz Garus⁸,
dr n. med. Patrycja Mensah-Glanowska⁹,
dr n. med. Krzysztof Mądry¹,
dr n. med. Renata Guzicka-Kazimierczak¹⁰,
dr n. med. Sławomir Rejowski¹¹,
dr n. med. Patrycja Zielińska¹²,
dr n. med. Dorota Zduńczyk¹,
lek. Paulina Marszałek¹³, dr n. med. Adam Hajduk¹⁴,
lek. Karol Lis¹,
dr n. med. Aleksandra Bogucka-Fedorczuk¹⁵,
dr n. med. Łukasz Bołkun¹⁶,
dr n. med. Katarzyna Brzezniakiewicz-Janus¹⁷,
lek. Dominik Bursa¹⁸, dr n. med. Monika Gasik¹⁹,
dr n. med. Justyna Gil²⁰, Katarzyna Kurowska²¹,
Małgorzata Paszkowska-Kowalewska¹,
Katarzyna Romanowska-Prochnicka²²,
Emilian Snarski¹, Monika Swacha²³,
Agnieszka Szymczyk²⁴, Alina Swiderska²⁵,
Karolina Torba²⁶, Mateusz Ziarkiewicz¹,
prof. dr hab. n. med. Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek¹,
prof. dr hab. n. med. Wiesław Jędrzejczak¹

¹Department of Hematology, Oncology and Internal Diseases, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

²Department of Experimental Hematology, Medical University of Lodz, Poland

³Department of Hematology and Transplantology, Medical University of Gdansk, Gdansk, Poland

⁴Hematology Department, Independent Public Health Care Ministry of the Interior of Warmia and Mazury Oncology Center, Olsztyn, Poland

⁵Oncology and Immunooncology Department, Independent Public Health Care Ministry of the Interior of Warmia and Mazury Oncology Center, Olsztyn, Poland

⁶Department of Hematology, Rydygier Specialistic Hospital, Krakow, Poland

⁷The Second Chair and Department of Internal Medicine, Collegium Medicum, Jagiellonian University, Kraków, Poland

⁸Department of Hematology, Holycross Cancer Center, Kielce, Poland

⁹Department of Hematology, Collegium Medicum, Jagiellonian University, Krakow, Poland

¹⁰Department of Hematology, Pomeranian Medical University, Szczecin, Poland

¹¹Department of Hepatology and Internal Medicine, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

¹²Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

¹³Collegium Medicum, Jagiellonian University, Krakow, Poland

¹⁴Department of Internal Medicine, Connective Tissue Diseases and Geriatrics, Medical University of Gdansk, Gdansk, Poland

¹⁵Department of Hematology, Blood Neoplasms and Bone Marrow Transplantation, Wroclaw Medical University, Wroclaw, Poland

¹⁶Department of Hematology, Medical University of Bialystok, Bialystok, Poland

¹⁷Department of Hematology, Multi-Specialist Hospital, Gorzów Wielkopolski, Poland

¹⁸Department of Infectious Diseases, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

¹⁹Voivodship Integrated Hospital in Plock, Plock, Poland

²⁰Department of Hematology, Markiewicz Memorial Oncology Center Brzozow, Brzozow, Poland

²¹Institute of Psychiatry and Neurology, Warsaw, Poland

²²Department of General and Experimental Pathology, 2nd Faculty of Medicine, Medical University of Warsaw, Poland

²³Department of Systemic Connective Tissue Diseases, Eleonora Reicher National Institute of Geriatrics, Rheumatology and Rehabilitation, Warsaw, Poland

²⁴Chair and Department of Haematooncology and Bone Marrow Transplantation Medical University of Lublin, Poland

²⁵Department of Hematology, Karol Marcinkowski Hospital, Zielona Gora, Poland

²⁶Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

Wstęp: Zespół hemofagocytowy (HLH; limfohistocytoza hemofagocytowa) to zespół objawów megazapalnych spowodowany przez bardzo duże ilości cytokin. Bez leczenia nieuchronnie prowadzi do śmierci. HLH może być wywołany przez różnorodne czynniki (nowotwory, infekcje, choroby z autoimmunizacją). Przez wiele lat diagnozowany był głównie u dzieci i dopiero w ostatnim czasie zaczął być rozpoznawany u dorosłych. Dlatego informacje dostępne dla tej grupy pacjentów są niezwykle skąpe – brakuje danych dotyczących właściwie wszystkich aspektów tego zespołu.

Cel: Celami pracy było scharakteryzowanie HLH występującego u dorosłych polskich chorych, ocena, czy cechuje się odmiennieścią w stosunku do innych

analizowanych grup chorych, oraz porównanie w tej populacji HLH związanego z różnymi czynnikami wywołującymi.

Materiał i metody: Do ich zrealizowania wykorzystano retrospektywne dane 86 dorosłych pacjentów z Krajowej Bazy Danych HLH (utworzonej w tym celu przez Autora pod auspicjami PALG – Polish Adult Leukemia Group).

Wyniki i wnioski: Występują liczne podobieństwa pomiędzy parametrami demograficznymi (wiek, płeć), klinicznymi (przeżycie) i biochemicznymi (stężenie ferrytyny, triglicerydów) polskich dorosłych pacjentów z HLH i opisywanymi grupami pacjentów z innych populacji. W analizowanej grupie było 34 pacjentów z HLH związanym z nowotworami (*malignancy-associated hemophagocytic syndrome* – MAHS), 20 z zakażeniami (*infection-associated hemophagocytic syndrome* – IAHS), 14 z chorobą z autoagresji (zespół MAS). U 18 pacjentów nie udało się zidentyfikować czynnika wywołującego. Zaobserwowano, że różnice pomiędzy tymi rodzajami HLH dotyczą: wieku (najwyższa mediana – 51 lat w MAHS, najniższa – 28 w IAHS), rokowania (najlepsze w MAS), liczby płytek (najniższa – $31 \times 10^9/l$ w MAHS), aktywności transaminaz (najwyższa w IAHS – AST 319, ALT 170 U/l, najniższa w MAHS – AST 87, ALT 71 U/l) i obecności splenomegalii (u wszystkich pacjentów z MAHS). Oprócz rokowania nie były one dotychczas opisywane. Na podstawie wykonanych badań sformułowano następujące wnioski: 1. Symptomatologia i przebieg HLH u dorosłych polskich chorych nie różni się zasadniczo od symptomatologii i przebiegu HLH u dorosłych chorych innych populacji. 2. U polskich dorosłych chorych występują niemal wszystkie rodzaje wtórnych HLH opisywane w piśmiennictwie. Występują pomiędzy nimi istotne, poza rokowaniem dotychczas nieopisywane, różnice w zakresie: rokowania, wieku, liczby płytek, aktywności transaminaz i obecności splenomegalii.

Introduction: Hemophagocytic syndrome (HLH; hemophagocytic lymphohistiocytosis) is a megainflammatory syndrome caused by high concentrations of cytokines. Without treatment it uniformly leads to death. HLH can be induced by various triggering factors (neoplasms, infections, autoimmune diseases). For many years it was diagnosed mostly in children and only recently it has been diagnosed in adults. That is why knowledge about this group of patients is very limited – data on almost every aspect of this syndrome is lacking.

Aim: Aim of this study was characterization of HLH occurring in Polish adult patients, and comparison with other patient groups. HLH induced by various triggering factors was compared.

Material and methods: Analyses were performed on data of 86 adult patients from Polish HLH Database (created by the Author and affiliated with PALG – Polish Adult Leukemia Group).

Results and conclusions: There are numerous similarities of the demographic (age, sex), clinical (survival) and biochemical (concentrations of ferritin and triglycerides) parameters between the between HLH patients from Poland and other countries. In the analyzed group there were 34 patients with malignancy-associated HLH (MAHS), 20 with infection-associated HLH (IAHS), 14 with HLH associated with autoimmune disease (MAS syndrome). In 18 patients triggering factor could not be determined. Differences between these HLH groups were observed in: age (the highest median – 51 years in MAHS and the lowest – 28 in IAHS), survival (the best in MAS), platelet count (the lowest – $31 \times 10^9/l$ in MAHS), transaminase activity (the highest in IAHS – AST 319, ALT 170 U/l, the lowest in MAHS – AST 87, ALT 71 U/l) and splenomegaly (present in all patients with MAHS). Except of survival, these differences were not described before. Based on the results of the analyses, the following conclusions were drawn: 1. Symptoms and course of HLH in adult Polish patients do not differ from symptoms and course of HLH in adult patients from the other populations. 2. Almost all forms of secondary HLH are present in Polish patients. Differences between them were found in: survival, age, platelet count, transaminase activity and splenomegaly. Except of survival, they were not described before.

MOLECULAR BACKGROUND OF THE LACK OF REACTIVITY OF HPA-1A ANTIGEN WITH MONOCLONAL SZ21 IN FACS – RESPONSIBLE FOR FALSE NEGATIVE RESULTS IN THE PREVFNAIT SCREENING PROGRAM

Maria Therese Ahlen¹, Katarzyna Guz²,
dr n. biol. Agnieszka Orzińska², Gerd Berge¹,
Małgorzata Uhrynowska², Agnieszka Gierszon²,
Izabella Kopeć², Marzena Dębska³, Ksenia Bykowska²,
Anne Husebekk¹, Anne Husebekk¹

¹University of Tromsø, The Arctic University of Norway, Tromsø, Norway

²Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

³Medical Center for Postgraduate Education, Warsaw, Poland

Introduction: Reliable identification of women HPA-1a negative women is crucial for screening programs for Fetal Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia (FNAIT). This requires detailed knowledge of the background and implications of discrepancies between serological and DNA based methods, as well as understanding of the genetic mechanisms of ITGB3 expression determining the antigenic epitopes.

Aim: Our aim was to determine: 1) frequency of HPA-1a false-neg results of HPA-1a phenotyping by FACS with Sz21 MoAb used in a screening program

PREVFNAIT, 2) the results of sequencing, cloning and expression of ITGB3 gene fragment which control the formation of HPA-1 antigenic determinants in phenotypically HPA-1a neg woman with HPA-1a/b genotype, 3) analysis of reactivity of mutated protein coated on beads with different monoclonal antibodies.

Material and methods: 17224 pregnant woman were tested for HPA-1a by flow cytometry (FACS) using Sz21 (see Guz et al.). All HPA-1a neg woman (420) were verified by genotyping. In two cases, the HPA-1a/1b genotype was identified. RNA from platelets of one woman was isolated and used for cDNA synthesis followed by ITGB3 cDNA amplification, sequencing, cloning and recombinant expression in insect cells. The protein variants were coupled to beads and analysed by FACS with different ITGB3 reactive moAbs.

Results and conclusions: The frequency of false neg HPA-1a typing by FACS using Sz21 antibody was 2/420 HPA-1a neg woman (2/17224 consecutive women). Sequencing of ITGB3 in the examined case confirmed the heterozygosity at nucleotide 196, defining the HPA-1 allotype and revealed two heterozygous positions G175T and C176T in Exon2 in cis with the allele encoding the HPA-1a, together resulting in a C26F amino acid substitution in the protein. FACS analysis of beads coated with mutated protein ITGB3-F26-L33 confirmed that its reactivity with moAbs Sz21 antibody was completely abolished. It was also not recognized by MoAb 26.4 – specific for HPA-1a. The anti-GPIIIa antibodies Y2/51 and AP3 which recognize both normal ITGB3-L33 and ITGB3-P33 variants also showed reduced reactivity. The frequency of false-negative results of HPA-1a phenotyping is ~4/1000 HPA-1a neg woman. The results confirmed that the lack of reactivity of HPA-1a antigen detected by FACS with monoclonal Sz21 was due to two adjacent SNPs in Exon2, which caused amino acid exchange in close proximity to the HPA-1 a/b polymorphism. Such results are important for extending the knowledge on molecular configuration of the HPA-1 epitopes.

Plakaty

P1. HYPERFERRITINEMIA AND SERUM INFLAMMATORY CYTOKINES IN ADULTS WITH NEWLY DIAGNOSED HEMOPHAGOCYTIC LYMPHOHISTIOCYTOSIS ASSOCIATED WITH HEMATOLOGICAL MALIGNANCY

dr Egle Sumskiene¹, dr Cecilia Kämpe Björkvall²,
prof. Maciej Machaczka¹

¹Hematology Center Karolinska, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

²Department of Medicine, Sunderby Regional Hospital of Norrbotten County, Luleå, Sweden

Introduction: Release of inflammatory cytokines in hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) induces immune cells and cytokine production that cumulates in cytokine storm and hyperinflammation. Hyperferritinemia $\geq 500 \mu\text{g/L}$ is a diagnostic criterion for HLH.

Aim: To evaluate the frequency and extent of hyperferritinemia as well as serum concentrations of selected inflammatory cytokines at the time of diagnosis of hematological malignancy-associated HLH (hM-HLH) in adults.

Material and methods: The study included 71 adults with hM-HLH, aged 22-84 years. In all studied patients, the diagnosis of HLH was based on the HLH-2004 criteria. Serum concentrations of inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α were analyzed using chemiluminescence (IMMULITE[®] One, DPC Siemens). Serum levels of sIL-2R α were determined by ELISA, using the quantitative 'sandwich' enzyme immunoassay, on the IMMULITE[®] 1000 Immunoassay System (DPC Siemens).

Results and conclusions: Lymphoid and myeloid malignancy was diagnosed in 42 and 29 patients, respectively. Fifty-four (76%) patients developed HLH as a first manifestation of an unknown malignancy, during progressive disease, or at malignancy relapse. The remaining 24% of patients developed HLH during chemotherapy. S-ferritin concentration (ref.: 30-350 $\mu\text{g/L}$) at the time of hM-HLH diagnosis was elevated in all but one patient (70/71, 98%). Mean ferritinemia was $37.281 \pm 84.440 \mu\text{g/L}$, median value $14.727 \mu\text{g/L}$, and range 96-645.291 $\mu\text{g/L}$. Hyperferritinemia $\geq 500 \mu\text{g/L}$ was present in 69 patients (97%), $\geq 2000 \mu\text{g/L}$ was noted in 67 patients (94%), $\geq 5000 \mu\text{g/L}$ in 56 patients (79%), and $\geq 10,000 \mu\text{g/L}$ in 42 patients (59%). S-levels of sIL-2R α (sCD25) were measured in 69/71 patients, of whom 91% (63/69) had values $\geq 2400 \text{ U/mL}$. Concentrations of TNF- α , IL-6, and IL-10 in serum were each elevated in over 85% of the examined hM-HLH patients. IL-8 concentration was increased in half of all tested patients at the time of HLH diagnosis. However, IL-1 β concentration was above reference range only in

12% of patients (7 of 58). Hyperferritinemia at the time of HLH diagnosis was common in Swedish adult patients with hM-HLH. We would like to emphasize that serum ferritin level fluctuates and can differ significantly from one day to another. Concentrations of TNF- α , IL-6, IL-8, and IL-10 were frequently elevated in the examined patients and these can become important markers supporting HLH diagnosis in equivocal cases. On the other hand, IL-1 β seems to be less useful in confirming a cytokine storm in this patient group.

P2. ACQUIRED THROMBOTIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA (ATTP) IN PATIENT WITH DECOMPENSATED/ UNCONTROLLED HYPERTENSION, HYPERHOMOCYSTEINEMIA, HYPERCHOLESTEROLEMIA AND HYPERLIPIDEMIA

dr Bernadeta Ceglarek¹,
dr med. Anna Jolanta Sikorska¹,
prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska¹,
dr med. Justyna M. Teliga-Czajkowska²,
mgr Anna Bućko¹, mgr Agata Lewandowska¹,
mgr Alicja Elżbieta Woźniak¹,
prof. dr hab. med. Jerzy Windyga¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Warszawski Uniwersytet Medyczny

Introduction: Acquired thrombotic thrombocytopenic purpura (aTTP) is characterized by thrombocytopenia and microangiopathic hemolytic anemia (MAHA) of no obvious origin. Microvascular thrombosis is also reported and causes variable degrees of tissue ischemia and infarction.

Material and methods: A female patient aged 50 admitted to IHTM in poor general condition, conscious without contact, no hemorrhagic disorders, no lymphadenopathy or hepatosplenomegaly. One episode of transient brain ischemia attack was observed in the amplitude of vascularization of right and left internal carotid arteries with transient right and left-sided hemihypaesthesia with such symptoms as: confusion, no logical contact, psychomotor agitation. Lab tests showed: WBC $9.4 \times 10^3/L$, RBC $1.7 \times 10^6/L$, Hb 5.7 g/dl, HCT 17.0%, MCV 97.1 fl, MCH 33.1 pg, MCHC 34.1 g/dl, platelet $7.0 \times 10^3/L$, blood smear: bands 18%, segmented 64%, lymphocytes 13%, monocytes 5%, RBC-anisocytosis, poikilocytosis, mikrocytosis, makrocytosis, schistocytes, reticulocytes: 9.03%, AST: 67.9 U/l, GGTP: 95.4 U/l, LDH: 1 380.3 U/l, bilirubin: 5.30 mg/dl, bilirubin direct 1.32 mg/dl, hypercholesterolemia and hyperlipidemia, antinuclear antibodies (ANA3), lupus anticoagulant (LA) were not detected, protein fraction pattern with normal range, heterozygous

mutation MTHFR C677T and hyperhomocysteinemia (20.90 $\mu\text{mol/l}$), ADAMTS 13 activity < 2% and ADAMTS13 inhibitor 41 U/ml. Decompensated hypertension and chronic nicotine use. A 4-week management consisted in administration of: 27 FFP plasma-phereses (1 epileptic attack Grand-Mal was recorded/ maintained after 2-nd procedure), steroids (Prednisone, Methyl-Prednisolone), red blood cell infusions – 2 units. ADAMTS13 activity increased from 2 to 62% and the inhibitor decreased from 41 to 12 U/ml. Remission was observed for the last 58 months. At present the patient is in good condition: ADAMS 13 activity (44.0%), no hyperhomocysteinemia, hypercholesterolemia, hyperlipidemia and arterial hypertension is under control.

Results and conclusions: In patients with TTP/aTTPa, heterozygous MTHFR C677T mutation, hyperhomocysteinemia, hypercholesterolemia, hyperlipidemia and uncontrolled hypertension. The plasmapheresis procedure and steroids prove to be an effective therapy.

P3. CZY MAŁOPŁYTKOWOŚĆ MOŻE BYĆ PRZYCYNĄ DYSKWALIFIKACJI OD LECZENIA GUZÓW LITYCH?

lek. Piyush Vyas¹, lek. Marta Dudek¹,
lek. Ewa Zurawinska¹, lek. Mateusz Cieslak¹,
lek. Anna Dryja¹, lek. Krzysztof Woźniak¹,
lek. Seema Vyas²

¹Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny SPCSK, Warszawa

²Zakład Teleradioterapii, Centrum Onkologii – Instytut, Warszawa

Wstęp: Małopłytkowość może, choć nie musi być przyczyną dyskwalifikacji od leczenia chorych na guzy łagodne. Przed podjęciem decyzji terapeutycznych konieczne jest ustalenie przyczyny cytopenii. Pacjenci z guzami łagodnymi są często dyskwalifikowani przez onkologów od leczenia np. chemioterapią paliatywną z powodu małopłytkowości. Wielu z tych pacjentów ma inne współistniejące choroby, np. małopłytkowość immunizacyjną, którą w dzisiejszej dobie bardzo skutecznie można leczyć. Po osiągnięciu optymalnej liczby płytek można już rozpocząć leczenie np. chemioterapią. Zbyt wczesna dyskwalifikacja pacjenta do leczenia chemioterapią może odebrać szanse na jego wyleczenie/przedłużenie życia.

Cel: Pacjenci z guzami łagodnymi z ITP mogą być skutecznie leczeni chemioterapią, po wstępnym skutecznym leczeniu ITP. Często onkolodzy zbyt wczesnie dyskwalifikują pacjentów z guzami łagodnymi od leczenia chemioterapią, a czasami wystarczy skutecznie leczyć np. ITP, aby z powodzeniem kontynuować leczenie pacjenta np. cytostatykami (a przez to przedłużyć całkowite przeżycie – OS).

Materiał i metody: Pacjenci z małopłytkowością mieli wykonane badanie szpiku, gdzie wykluczono nacieki szpiku, a po wykluczeniu innych przyczyn małopłytkowości u tych pacjentów rozpoznano ITP. Najpierw pacjentów leczono skutecznie na ITP, a po stwierdzeniu wzrostu liczby płytek poddano np. chemioterapii paliatywnej. A poprzez to przedłożono czas całkowitego przeżycia (OS). Byli to pacjenci z guzami litymi (rak dwunastnicy, rak piersi) dyskwalifikowani od innych ośrodków onkologicznych.

Wyniki i wnioski: Ustalenie przyczyny małopłytkowości i jej skuteczne leczenie pozwala na systematyczne prowadzenie chemioterapii z powodu choroby nowotworowej.

Introduction: Thrombocytopenia should not always be a reason for disqualifying patients with solid tumours from getting treated with for example palliative chemotherapy. It has been observed that world over oncologists very frequently disqualify patients from being treated with for example palliative chemotherapy too early without diagnosing the reason of thrombocytopenia. Many a times these thrombocytopenias/cytopenias are treatable, and after successfully treating for example ITP, many of these patients can be treated with for example palliative chemotherapy. And thus we can prolong life of these patients.

Aim: If properly treated many thrombocytopenia for example due to ITP among solid tumour patients are treatable, and after achieving satisfactory level of platelets oncologists can qualify patients for chemotherapy and increase overall survival (OS) of these patients. Not every thrombocytopenia patient is to be disqualified from potential treatment.

Material and methods: Patients with solid tumours (duodenal cancer, breast cancer) disqualified from various oncology centres due to thrombocytopenia for treatment with for example palliative chemotherapy were first examined for the underlying cause of thrombocytopenia by doing bone marrow biopsy. And after ruling out bone marrow infiltration by tumour cells and other causes, a diagnosis of ITP was established. And these patients with ITP and coexistent solid tumours were treated first for ITP and after attaining satisfactory level of platelets, such patients were administered successfully chemotherapy. Thus we prolonged life, overall survival of these patients.

Results and conclusions: If the cause of thrombocytopenia is known among solid tumour patients, it is possible to successfully treat many of these patients with for example palliative chemotherapy. And thus we can prolong life, overall survival of these patients.

P4. DOOSKRZELOWE ZASTOSOWANIE REKOMBINOWANEGO CZYNNIKA VIIA U PACJENTA Z KRWAWIENIEM DO PĘCHERZYKÓW PŁUCNYCH W PRZEBIEGU ITP

lek. Michał Górka, lek. Jagoda Żurawska,
prof. Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek, dr Piotr Boguradzki

SPCSK, Warszawa

Wstęp: Krwawienie do pęcherzyków płucnych obserwowane jest najczęściej w przebiegu układowych zapaleń naczyń i chorób tkanki łącznej. U pacjentów z pierwotną małopłytkowością immunologiczną powikłanie to występuje niezmiernie rzadko. W literaturze opisano kilkadziesiąt przypadków skutecznego leczenia DAH, w przebiegu chorób innych niż ITP, za pomocą dooskrzelowego podania rekombinowanego czynnika VIIa.

Cel: Prezentacja przypadku klinicznego zastosowania dooskrzelowo rekombinowanego czynnika VIIa u pacjenta z zagrażającym życiu krwawieniem do pęcherzyków płucnych w przebiegu pierwotnej małopłytkowości immunologicznej.

Materiał i metody: Retrospektywna analiza przypadku.

Wyniki i wnioski: 56-letni pacjent nieleczący się przewlekłe, z wywiadem przebytej infekcji górnych dróg oddechowych przed kilkoma tygodniami został przyjęty z powodu objawowej małopłytkowości (PLT 1G/L). W toku diagnostyki, po wykluczeniu wtórnych przyczyn małopłytkowości rozpoznano pierwotną małopłytkowość immunologiczną. Zastosowano wysokie dawki kortykosteroidów, a następnie ludzkie immunoglobuliny dożylnie. W związku z brakiem wzrostu stężenia płytek krwi, z towarzyszącymi krwawieniami z błon śluzowych oraz krwimoczem, stosowano przetoczenia koncentratu krwinek płytkowych. W piątę dobie hospitalizacji nastąpiło gwałtowne pogorszenie się stanu ogólnego pacjenta z towarzyszącym masywnym krwiopluciem, dusznością, spadkiem saturacji. Wykonano HRCT klatki piersiowej, stwierdzając obraz kostki brukowej typowy dla rozlanego krwawienia do pęcherzyków płucnych. Pacjent wymagał tlenoterapii biernej, a następnie wentylacji mechanicznej. W wykonanym badaniu bronchoskopowym stwierdzono obecność dużej ilości krwi i skrzepów w tchawicy do poziomu jej rozwidlenia. Ze względu na wysokie ryzyko nasilenia krwawienia odstąpiono od pobrania popłuczyn pęcherzykowo-oskrzelikowych. Zdecydowano o podaniu dooskrzelowym rekombinowanego czynnika VIIa w dawce 4 mg, uzyskując szybką poprawę stanu ogólnego, wydolności oddechowej i ustąpienie objawów krwawienia do pęcherzyków płucnych. W dalszym postępowaniu zastosowano cztery podania rytuksymabu w dawce 100 mg raz w tygodniu, uzyskując normalizację stężenia płytek krwi (do chwili obecnej obserwacja 2-miesięczna). Pacjent wrócił do pełnej sprawności i aktywności zawodowej. Jak dotąd nie ustalono innego

czynnika ryzyka wystąpienia DAH u tego pacjenta poza ciężką małopłytkowością. Przedstawiony przypadek ukazuje nowe możliwości zastosowania rekombinowanego czynnika VIIa w przypadku krwawienia zagrażającego życiu u pacjentów z ITP.

P5. AKTYWNOŚĆ PRZECIWCIAŁ ANTY-HPA-1A JAKO CZYNNIK PREDYKCYJNY RYZYKA MAŁOPŁYTKOWOŚCI U PŁODU/NOWORODKA

Agnieszka Gierszon¹, dr Marzena Dębska²,
dr Małgorzata Uhrynowska¹, Patrycja Łopacz¹,
dr Katarzyna Guz¹, dr Agnieszka Orzińska¹,
Magdalena Ołdak¹, Beata Szczepaniak¹,
Ewelina Sokół¹, prof. dr hab. Krystyna Maślanka¹,
prof. Anne Husebekk³, prof. dr hab. Ewa Brojer¹

¹Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Zakład Położnictwa i Ginekologii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

³Institute of Medical Biology, University of Tromsø, The Arctic University of Norway, Tromsø, Norwegia

Wstęp: Dla identyfikacji kobiet narażonych na alloimmunologiczną małopłytkowość płodowo/noworodkową (AIMP/N) wdrożono w Polsce program badań przesiewowych antygenu HPA-1a (PREVFNAIT). U wszystkich kobiet HPA-1a-ujemnych badano obecność przeciwciał anti-HPA-1a, a po ich wykryciu – miano i aktywność.

Cel: Korelacja miana i aktywności anti-HPA-1a w osoczu kobiety ciężarnej z liczbą PLT płodu/noworodka oraz ocena dodatniej i ujemnej wartości predykcyjnej (PPV i NPV) badania. Ocena poziomu anti-HPA-1a w próbkach osocza sprzed wdrożenia terapii IVIG i po bieranych w czasie leczenia.

Materiał i metody: Badania wykonano u 48 HPA-1a-ujemnych kobiet ciężarnych z przeciwciałami anti-HPA-1a reagującymi w teście immunoenzymatycznym MAIPA. Próbkę osocza 11 kobiet badano w 16., 28., 32. i 38. tygodniu ciąży oraz 6. tygodniu po porodzie, a w 37 przypadkach co najmniej raz podczas lub po zakończeniu ciąży. Ilościowe badania przeciwciał wykonano w teście MAIPA ze standardem anti-HPA-1a nr 03/152 (NIBSC). Poziom przeciwciał skorelowano z liczbą PLT płodu ($n = 5$) przed podjęciem leczenia lub liczbą PLT noworodka u kobiet nieleczonych IVIG ($n = 20$). W 46 próbkach od 13 kobiet poziom przeciwciał badano podczas leczenia IVIG i po porodzie.

Wyniki: 1. Aktywność przeciwciał [IU/ml] (średnia $\pm$ SD; liczba przypadków)/PLT płodu/norodka [$\times 10^9/L$]:

- $39,17 \pm 21,6$ ($n = 7$)/ < 50 ,
- $1,71 \pm 1,81$ ($n = 3$)/ $50-150$,
- $4,11 \pm 5,30$ ($n = 15$)/ > 150 .

2. Analiza poziomu anti-HPA-1a podczas leczenia IVIG:

- u 4 leczonych kobiet poziom przeciwciał spadł ze śr. 53,06 do 6,22 IU/ml, dzieci urodzone bez oznak krwawienia i bez lub z mierną małopłytkowością (odpowiednio: 23, 287, 124, 109 $\times 10^9/L$),
- u 1 nieleczonej kobiety aktywność przeciwciał spadła z 47,81 do 6,67 IU/ml, dziecko z mierną małopłytkowością (100 $\times 10^9/L$),
- u większości kobiet aktywność przeciwciał wzrosła po porodzie (śr. do 20,3 IU/ml).

3. Dla odcięcia aktywności przeciwciał anti-HPA-1a = 20 IU/ml PPV metody wynosi 100%, a NPV – 90%.

Wnioski: 1. Wstępne wyniki sugerują, że wystąpienie małopłytkowości u płodu/norodka pacjentki HPA-1a-ujemnej można przewidzieć, znając aktywność przeciwciał anti-HPA-1a w jej osoczu. 2. PPV i NPV dla aktywności anti-HPA-1a = 20 IU/ml wydają się miarodajne dla przewidzenia ryzyka wystąpienia głębokiej małopłytkowości u dziecka kobiety zimmunizowanej. Należy przeprowadzić bardziej szczegółowe badania, by potwierdzić wartość predykcyjną ustalonego przez nas odcięcia. 3. Leczenie IVIG podczas ciąży wpływa na poziom przeciwciał anti-HPA-1a w osoczu matki i prowadzi do wzrostu liczby PLT dziecka.

Introduction: In order to identify women at risk of fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT) we introduced the PREVFNAIT screening program for HPA-1a antigen typing in Poland. All HPA-1a negative women were tested for anti-HPA-1a and in positive cases for antibody titer and activity.

Aim: 1. To present the results of correlation between Ab activity in plasma of pregnant women and PLT count in the fetus/newborn. 2. To evaluate the positive and negative predictive values (PPV and NPV) of such testing. 3. Analysis of Ab level in samples collected before IVIG introduction and in the subsequent samples.

Material and methods: The study was performed in 48 HPA-1a negative pregnant women with anti-HPA-1a detected in MAIPA. Plasma samples of 11 women were tested in the 16, 28, 32 and 38 weeks of gestation and 6 weeks after delivery and in 37 cases at least once during or after pregnancy. Quantitation of Abs was performed in MAIPA using NIBSC anti-HPA-1a standard (03/152). Antibody level was correlated with PLT count in the fetus ($n = 5$) or in the newborn of nontreated women ($n = 20$). Moreover, Ab levels were measured during IVIG therapy and after the delivery in 46 samples from 13 women.

Results: 1. Ab activity (mean $\pm$ SD; no of cases)/PLT count in the fetus/newborn:

- 39.17 ± 21.6 IU/ml ($n = 7$)/ $< 50 \times 10^9/L$,
- 1.71 ± 1.81 IU/ml ($n = 3$)/ $50-150 \times 10^9/L$,
- 4.11 ± 5.30 IU/ml ($n = 15$)/ $> 150 \times 10^9/L$.

2. Analysis of anti-HPA-1a level during IVIG treatment.

- In 4 treated women Ab level decreased from mean 53.06 to 6.22 IU/ml, their babies were born with no

signs of bleeding and with no or mild thrombocytopenia ($239 \times 10^9/L$, $287 \times 10^9/L$, $124 \times 10^9/L$, $109 \times 10^9/L$ respectively);

- In 1 woman Ab activity decreased from 47.81 to 6.67 IU/ml, the child had mild thrombocytopenia ($100 \times 10^9/L$);
- In all women antibody activity increased after delivery (to ~ 20.3 IU/ml).

3. For anti-HPA-1a activity cut-off set on 20 IU/ml: PPV of our method is 100% and NPV is 90%.

Conclusions: 1. Preliminary results suggest that the severity of thrombocytopenia in the fetus/child of HPA-1b/1b woman may be predicted by the level of anti-HPA-1a in maternal plasma. However, more studies are necessary to determine the predictive value and the cut-off in our laboratory. 2. PPV and NPV of our method seem reliable in establishing the risk of severe thrombocytopenia in fetus or newborn of HPA-1a negative woman with corresponding antibodies. 3. IVIG administration during the pregnancy influences anti-HPA-1a level and leads to increase of fetal platelet count.

P6. ANALIZA WYKRYWANIA PRZECIWCIAŁ PRZECIWGRANULOCYTARNYCH PRZY UŻYCIU TESTÓW: AGLUTYNACJI (GAT), IMMUNOFLUORESCENCYJNEGO (GIFT), ENZYMATYCZNEGO (MAIGA) ORAZ LABSCREEN MULTI Z WYKORZYSTANIEM TECHNOLOGII LUMINEX

Patrycja Łopacz, Magdalena Ołdak,
dr Małgorzata Uhrynowska, Agnieszka Gierszon,
Beata Szczepaniak, Katarzyna Guz,
prof. dr hab. Krystyna Maślanka,
prof. dr hab. Ewa Brojer

Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej,
Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Przeciwciała skierowane przeciwko antygenom powierzchniowym neutrofilii (*human neutrophil antigens* – HNA) mogą powstawać w wyniku procesów allo- i autoimmunizacji. Alloprzeciwciała mogą być przyczyną noworodkowej alloimmunologicznej granulocytopenii lub niehemolitycznych gorączkowych odczynów poprzetoczeniowych i ostrej poprzetoczeniowej niewydolności płuc. Autoprzeciwciała są często odpowiedzialne za występowanie neutropenii, głównie u dzieci i niemowląt (*autoimmune neutropenia* – AIN).

Cel: Porównanie wykrywalności przeciwciał przeciwgranulocytarnych w surowicach chorych z neutropenią ocenionych równolegle w testach aglutynacji (GAT), immunofluorescencyjnego (GIFT), enzymatycznego

Materiał i metody: Przeanalizowano wyniki badania 174 surowic od chorych z agranulocytozą lub neutropenią ocenionych równolegle w testach aglutynacji (GAT), immunofluorescencyjnego (GIFT), enzymatycznego

(MAIGA) oraz LABScreen Multi/Luminex. Swoistość przeciwciał ustalono na podstawie reaktywności surowicy z granulocytami dawców panelowych o określonym genotypie HNA lub z oczyszczonymi antygenami HNA opłaszczonymi na polistyrenowych kulkach.

Wyniki: Przy użyciu co najmniej jednej z czterech metod przeciwciała wykryto w 52,8% (82/174) surowic. W LABScreen Multi reagowało $\sim 42\%$ wszystkich surowic, w MAIGA $\sim 38\%$, w GAT $\sim 16\%$ i w GIFT $\sim 16\%$. Swoistość określono we wszystkich surowicach reaktywnych w LABScreen Multi, w $\sim 60\%$ reaktywnych w MAIGA, w 32% w GIFT i w 20% w teście GAT. Wykryto następujące swoistości przeciwciał: 46% HNA-1a, 12,3% HNA-1b, 11% HNA-1ab, 1,1% HNA-1c, 4,3% HNA-2, 6,8% HNA-3a, 1,4% HNA-3b, 5,5% HNA-4a. Wyłącznie w jednym z testów przeciwciała wykryto w 37,8% (31/82) surowic: 22% w LABScreen Multi (10 anty-HNA-1a, 4 anty-HNA-1b, 3 anty-HNA-1ab, 1 anty-HNA-3a), 13,4% w MAIGA (1 anty-HNA-1b, 4-HNA-1, w 6 nie określono swoistości przeciwciał), 1,2% w GAT (1 anty-HNA-3a), 1,2% w GIFT (1 anty-HNA-1a).

Wnioski: 1. Przeprowadzona analiza potwierdza słuszność zaleceń ISBT, że z powodu różnej reaktywności przeciwciał anty-HNA oraz występowania swoistych przeciwciał wykrywanych tylko w jednym z testów konieczne jest ich badanie przy użyciu wszystkich analizowanych metod. 2. Swoistość przeciwciał anty-HNA najskuteczniej ustala się za pomocą testu LABScreen Multi/Luminex, lecz w niektórych przypadkach nie wykryto przy jego użyciu istotnych klinicznie przeciwciał anty-HNA-3 (o charakterze aglutynin), wykrywanych jedynie w teście GAT.

P7. IZOLOWANE ZAJĘCIE OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO W PRZEBIEGU REAKTYWACJI LIMFOHISTIOCYTOZY HEMOFAGOCYTARNEJ

Jadwiga Kozieł, dr hab. n. med. Iwona Malinowska,
prof. dr hab. n. med. Michał Matysiak,
Katarzyna Smalisz-Skrzypczyk,
dr n. med. Michał Romiszewski

Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Zajęcie ośrodkowego układu nerwowego (OUN) w przebiegu limfocytozy hemofagocytarnej (HLH) występuje u 30–70% pacjentów. HLH w obrębie OUN może występować zarówno w pierwotnych, jak i we wtórnych postaciach HLH, rozwijać się na początku choroby, towarzysząc innym objawom, a także wystąpić w trakcie leczenia lub po jego zakończeniu, jako izolowane zajęcie OUN. W patogenezie choroby aktywowane limfocyty i makrofagi naciekać tkankę nerwową oraz opony mózgowo-rdzeniowe, doprowadzając do nieodwracalnych uszkodzeń. Kliniczne

objawy choroby, nieprawidłowości w badaniach obrazowych, a także w ocenie PMR są różnicowane i niecharakterystyczne.

Cel: Przedstawienie przebiegu klinicznego zajęcia OUN w przebiegu reaktywacji HLH.

Materiał i metody: 15-letni chłopiec był leczony wg protokołu HLH-2004 z powodu HLH o nieustalonej etiologii (wykluczono postać pierwotną HLH, przyczyny onkologiczne, reumatologiczne, immunologiczne oraz infekcyjne). W trakcie redukcji steroidoterapii wystąpiły nudności, wymioty, niedosłuch, niewyraźne widzenie, zaburzenia w zakresie nerwów czaszkowych III–VIII, dodatkowo objawy oponowe, zaburzenia równowagi, osłabienie siły mięśniowej, niedowład kończyn dolnych, odruchy głębokie były nieobecne. W badaniu TK OUN nie stwierdzono nieprawidłowości, w MRI OUN opisano obustronne wzmocnienie i pogrubienie nerwów czaszkowych III–IX oraz opon mózgowo-rdzeniowych podstawy środkowego dołu czaszki. W MRI rdzenia kręgowego stwierdzono w odcinku szyjnym zmniejszenie objętości i nierówną powierzchnię, pogrubienie i wzmocnienie nerwów rdzeniowych i opon rdzenia na całej długości, szczególnie w odcinku L-S oraz ogona końskiego. W PMR kwas mlekowy 5,4 mmol/L, pleocytoza 215/μl, białko całkowite 1013 mg/dl, glukoza 16,0 mg/dl. W badaniu cytologicznym oraz immunofenotypowym stwierdzono prawidłowe aktywowane limfocyty T. Wykluczono neuroinfekcję oraz choroby demielinizacyjne, neurosarkoidozę, chłoniaka OUN. Rozpoznano reaktywację HLH w OUN i rozpoczęto leczenie wg HLH-2004 z podawaniem metotreksatu i hydrokortyzonu dokałowo. Uzyskano poprawę stanu klinicznego pacjenta, ustępowanie zmian w badaniach obrazowych oraz stopniową poprawę parametrów PMR.

Wyniki i wnioski: U pacjentów z HLH może dochodzić o zajęcia OUN, które przebiega z lub bez towarzyszących objawów neurologicznych. Jedyną manifestacją zajęcia OUN mogą być nieprawidłowości w CT/MRI lub PMR. Bardzo ważne jest wczesne rozpoczęcie leczenia w celu zminimalizowania nieodwracalnych skutków choroby.

in order to harmonize the molecular response results in laboratories all over the world. However, our data suggest that using the most common protocol may lead to overestimation of e13a2 transcript.

Aim: The goal of the study was to verify the observation that e14a2 transcript amplifies less efficiently than e13a2. The secondary goal was to validate the modification of Europe Against Cancer (EAC) protocol developed in 2011 which corrects observed artifacts.

Material and methods: The BCR-ABL measurements acquired using EAC and in-house modified EAC protocol have been compared with results from SA Pathology in Adelaide. The Adelaide protocol (Branford and Hughes 2006) consists of separate, optimized reactions for e13a2 and 14a2 transcripts, therefore it should be considered free of any PCR efficiency-related artifacts. The data originated from four independent sample batches exchanged between Poznan and Adelaide since 2009.

Results and conclusions: The analysis of retrospective EAC protocol data showed that when e13a2 and e14a2 samples entered the exponential phase at the same time, the latter would cross the threshold approximately 2.2 cycles after the first one. Re-analysis of data from sample exchanges from 2009 revealed that after establishing a conversion factor (CF), all of the e14a2 measurements in Poznan were underestimated according to Adelaide. At the same time, almost all of e13a2 samples were overestimated. Still, the bias between methods was acceptable and a valid conversion factor (CF) was calculated. The method modification introduced 2011 eliminated this difference and increased concordance between laboratories. The last sample batch revealed significant difference between non-modified and modified EAC protocols in e13a2 measurements: 4.56 ($\pm$ 0.96). Reanalysis of sample batch from 2009 (presented on fig.1) using 4.57 (2×2.28) factor (e13a2 results divided by 2.28, e14a2 results multiplied by 2.28) resulted in almost perfect data alignment. The results of modified EAC protocol, after CF recalculation, showed very good concordance with Adelaide (100% results of e14a2 and 88% of e13a2 within 2-fold of reference laboratory).

P8. THE EUROPE AGAINST CANCER PROTOCOL FOR BCR-ABL P²¹⁰ TRANSCRIPT MEASUREMENT MAY OVERESTIMATE RESULTS FOR E13A2 VARIANT

dr Michał Gniot, prof. Mieczysław Komarnicki,
prof. Krzysztof Lewandowski

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku,
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Introduction: The quantitative PCR of BCR-ABL transcript has been the most useful technique for monitoring therapy in CML patients for over a decade. The numerous standardization projects have been undertaken

P9. OCENA POZIOMU PDGF W OSOCZU PACJENTÓW Z PRZEWLEKŁĄ BIAŁACZKĄ SZPIKOWĄ PRZED I PO ROZPOCZĘCIU LECZENIA INHIBITORAMI KINAZ TYROZYNOWYCH

Zofia Litwińska¹, Karolina Łuczkowska¹, Anna Sobuś¹,
Ewa Pius-Sadowska¹, Edyta Paczkowska¹,
Grzegorz Helbig², Bogusław Machaliński¹

¹Zakład Patologii Ogólnej, Pomorski Uniwersytet Medyczny, Szczecin

²Katedra i Oddział Hematologii i Transplantacji Szpiku, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Katowice, Polska

Wstęp: Charakterystyczną zmianą u chorych na przewlekłą białaczkę szpikową (PBSz) jest występowanie genu fuzyjnego BCR-ABL1, kodującego konstytutywnie aktywną kinazę tyrozynową. Inhibitory kinaz tyrozynowych (TKI) hamują nie tylko kinazę BCR-ABL1, lecz także inne kinazy, takie jak kinaza receptora dla płytkopochodnego czynnika wzrostu (PDGF). PDGF jest silnym mitogenem dla komórek o pochodzeniu mezenchymalnym i odgrywa istotną rolę w angiogenezie, kluczowym procesie dla rozwoju i przeżycia komórek nowotworowych. Rola PDGF i jego receptorów w hematopoezie w warunkach fizjologii oraz patologii nie została dotąd dokładnie określona.

Cel: Ocena poziomu PDGF-AA w osoczu pacjentów z PBSz oraz ocena wpływu leczenia za pomocą TKI na poziom tego białka w kolejnych punktach czasowych.

Materiał i metody: Próbkę krwi obwodowej pobierano od nowo zdiagnozowanych pacjentów z PBSz ($n = 5$), pacjentów z PBSz leczonych TKI ($n = 5$) i osób zdrowych stanowiących grupę kontrolną ($n = 10$). U dwóch pacjentów dodatkowo wykonano analizę w kolejnych punktach czasowych (0, 3, 6 miesiąc terapii TKI). Poziom PDGF-AA w osoczu analizowano z zastosowaniem technologii Luminex przy użyciu zestawu Human Neuropathic disease Panel.

Wyniki i wnioski: Poziom PDGF-AA był wyższy w grupie chorych zarówno przed, jak i w trakcie leczenia TKI w porównaniu z grupą kontrolną. Natomiast pacjenci leczeni TKI prezentowali niższy poziom PDGF-AA niż chorzy przed rozpoczęciem leczenia. U dwóch pacjentów ocenianych w kolejnych punktach czasowych zaobserwowano stopniowe obniżenie osoczowego poziomu PDGF. W celu kontynuacji obecnych badań zaplanowano rekrutację następnych pacjentów do grupy badanej, analizę poziomu PDGF w kolejnych punktach czasowych oraz ocenę ekspresji PDGF w komórkach jądrazstych krwi obwodowej za pomocą qRT-PCR. Otrzymane wyniki wskazują na możliwość oceny poziomu PDGF w osoczu pacjentów z PBSz w celu identyfikowania białek o odmiennej ekspresji w momencie rozpoznania i podczas leczenia TKI. Wykazano, że u pacjentów z PBSz leczonych TKI poziom PDGF jest istotnie niższy niż u chorych przed rozpoczęciem leczenia. Analiza dynamiki spadku poziomu PDGF w kolejnych

punktach czasowych u chorych leczonych TKI nie pozwala na wyciągnięcie wniosków i wymaga rekrutacji większej liczby chorych. Mamy nadzieję, że wyniki uzyskane w trakcie badań naszego zespołu przyczynią się do lepszego wglądu w rolę PDGF w patofizjologii PBSz, co może w przyszłości przyczynić się do rozwoju diagnostyki i terapii.

KOMUNIKACJA W HEMATOLOGII

PRZEWODNICZĄCY:
K. SUŁEK (WARSZAWA)

Doniesienia ustne

JAKOŚĆ ŻYCIA ORAZ RELACJE DAWCA – BIORCA U PACJENTÓW PODDANYCH ALLOGENICZNEJ TRANSPLANTACJI SZPIKU OD RODZEŃSTWA ZGODNEGO W HLA (MSD-BMT)

dr med. Olga Zając-Spychała, dr Anna Pieczonka,
mgr Małgorzata Barańska, prof. Jacek Wachowiak

Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii
Pediatrycznej, Uniwersytet Medyczny
im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Wstęp: Preferowanym dawcą allogenicznego szpiku kostnego jest rodzeństwo zgodne z biorcą w zakresie antygenów układu HLA (MSD-BMT). Dawstwo szpiku jest szczególnym doświadczeniem, które może mieć wpływ na dalsze relacje między rodzeństwem.

Cel: Celem pracy była ocena jakości życia (QoL) pacjentów poddanych MSD-BMT ze szczególnym uwzględnieniem relacji między biorcą i dawcą szpiku.

Materiał i metody: W ramach projektu do badań zaproszono 82 dorosłych pacjentów w wieku 18,0–38,7 (mediana: 23,6) roku, u których przeprowadzono MSD-BMT oraz ich dawców. Grupę badaną stanowiło 45 biorców (54,9%; 19 kobiet, 26 mężczyzn) w wieku 18,0–36,2 (mediana: 28,5) roku, którzy otrzymali przeszczep od zgodnego dawcy rodzinnego w wieku 5,8–16,3 (mediana: 11,9) roku, oraz ich rodzeństwo w wieku 21,0–36,0 (mediana: 31,0) lat, które było dawcami szpiku w wieku 11,2–20,2 (mediana: 15,5) roku. QoL biorców oceniano standaryzowanym Kwestionariuszem jakości życia związanej ze zdrowiem dla pacjentów po przeszczepieniu FACT-BMT. Do oceny relacji między rodzeństwem wykorzystano Kwestionariusz Relacji Dorosłego Rodzeństwa ASRQ charakteryzujący relacje w trzech głównych wymiarach: Ciepła, Konfliktu i Rywalizacji.

Wyniki: QoL w badanej grupie biorców przeszczepu wynosiła $109,0 \pm 7,5$. Osoby badane najwyżej oceniły funkcjonowanie w życiu codziennym ($25,6 \pm 1,7$), a najniżej stan emocjonalny ($20,7 \pm 0,5$). Na QoL bior-

ców przeszczepu nie miał wpływu wieku w momencie przeszczepu ($p = 0,256$), obecny wiek ($p = 0,378$) oraz płeć ($p = 0,117$) respondentów. Najczęściej występującą charakterystyką relacji z dorosłym rodzeństwem był wymiar Ciepła ($62,6 \pm 7,8$ u biorców vs $45,7 \pm 5,4$ u dawców). Drugim wymiarem opisującym relacje z rodzeństwem w ocenie biorców przeszczepu była Rywalizacja ($40,7 \pm 6,8$ u biorców vs $60,3 \pm 6,0$ u dawców), a najniżej oceniono wymiar Konfliktu ($38,6 \pm 5,5$ u biorców vs $32,9 \pm 3,6$ u dawców). Wykazano istotną statystycznie różnicę w poziomie Rywalizacji pomiędzy dawcami a biorcami przeszczepu ($p = 0,007$).

Wnioski: 1. Jakość życia związana ze zdrowiem u osób po przeszczepieniu szpiku kostnego jest bardzo dobra. 2. Relacje między rodzeństwem będącym dawcą i biorcą przeszczepu charakteryzują się głównie Ciepłem u biorców, a Rywalizacją u dawców przeszczepu i mogą być wynikiem rzutowania doświadczeń przeniesionych z dzieciństwa. 3. Konieczne są dalsze badania oparte na większej grupie, aby ostatecznie ocenić jakość życia i relacje między rodzeństwem, dawcą i biorcą przeszczepu.

Praca wykonana w ramach grantu UM w Poznaniu nr 502-14-01104119-10398.

Introduction: Transplant donation between sibling is an unique life experience that may have an impact on their future relationship.

Aim: Was to quantitatively measure the quality of life (QoL) in transplanted patients and to describe the relationship between recipient and donor after MSD-HSCT.

Material and methods: We identified and invited to participate in this survey 82 adults aged 18.0-38.7 years (med 23.6) who underwent MSD-HSCT in our centre and their sibling donors. They received the self-assessment questionnaire with an information sheet on the goals and course of the study and an informed consent form. The studied group consisted of 45 (54.9%) MSD-HSCT recipients (19 women and 26 men) aged 18.0-36.2 (med 28.5) years, who underwent MSD-HSCT at age of 5.8-16.3 (med 11.9) years and their sibling donors aged 21.0-36.0 (med 31.0) years, who were at age of 11.2-20.2 (med 15.5) years at bone marrow harvesting. For the quantitative measurement of QoL, the questionnaire Functional Assessment of Chronic Illness Therapy – Bone Marrow Transplantation (FACT-BMT) and for assessment of donor – recipient relationship, the Adult Sibling Relationship Questionnaire (ASQR) were used.

Results: The overall QoL was 109.0 ± 7.5 points. The best results were found in Functional well-being (25.6 ± 0.9), while the worst in Emotional well-being (20.7 ± 0.5). Statistically, the QoL score was not influenced by age at HSCT ($p = 0.256$), current age ($p = 0.378$) or gender ($p = 0.117$) of the respondents. The recipients scored highest on Warm factor (62.6 ± 7.8), while donors scored slightly higher Rivalry (60.3 ± 6.0) than Warm

(45.7 ± 5.4). The second dimension scored by recipients was Rivalry (40.7 ± 6.8). Conflict scores were lowest, although donors scored higher on these than recipient respondents (38.6 ± 5.5 in donors vs. 32.9 ± 3.6 in recipients). Statistical analysis revealed that the being a donor or recipient of MSD-HSCT determines the level of Rivalry in the sibling relationship ($p = 0.007$) with no impact on Warm and Conflict dimension.

Conclusions: 1. QoL in transplanted patients is quite good. 2. Sibling donor – recipient relationship is unbalanced with recipient respondents being more likely to assess a warm relationship, while Rivalry was more likely to be present amongst donors. 3. Further multicenter studies based on larger cohort of patients are necessary to assess sibling relationship after transplantation life experience.

This work was supported by grant from Poznan University of Medical Sciences (502-14-01104119-10398).

Plakaty

P1. JAKOŚĆ ŻYCIA OPIEKUNÓW DZIECI Z NOWOTWOREM UKŁADU KRWIOTWÓRCZEGO

dr n. med. Eleonora Mess¹, mgr Ewa Baran¹,
student 6. roku, kierunek lekarski Maciej Ornat²,
student Weronika Rybakiewicz¹,
student Barbara Andczak¹

¹Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²SKN, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wstęp: Dziecięce nowotwory to choroby przewlekłe, które mają znaczenie dla funkcjonowania rodziny. Choroba w rodzinie zmienia styl życia, wyznacza nowe priorytety, weryfikuje domowy budżet, zmieniając cel wydatków z konsumpcyjnych na te bezpośrednio związane z chorobą, obniża poczucie bezpieczeństwa, zacieśnia poczucie rodzinnych więzi lub przeciwnie – rozluźnia je, wywołując poczucie opuszczenia i osamotnienia.

Cel: Celem niniejszej pracy jest ocena jakości życia opiekunów dzieci z chorobą nowotworową układu krwiotwórczego.

Materiał i metody: Badanie zostało przeprowadzone w 2016 r. w Uniwersyteckim Szpitalu Klinicznym, Klinice Transplantacji Szpiku Onkologii i Hematologii Dziecięcej we Wrocławiu. Badaniem objęto 96 opiekunów dzieci z rozpoznaniem nowotworem układu krwiotwórczego. Do badania wykorzystano kwestionariusze:

- Kwestionariusz samooceny STAI X-1 oraz X-2,
- Skali depresji Zunga,
- Szpitalnej skali lęku i depresji HADS.

Wyniki i wnioski: 1. Poziom lęku u rodziców i opiekunów dzieci chorych na raka jest wysoki. 2. Rodzice/opiekunowie wykazują cechy depresji. 3. Na jakość życia rodzin z dzieckiem z rozpoznaną chorobą nowotwo-

rową wpływa: sama choroba, jak również czynniki sfery psychospołecznej, socjalne, terapeutyczne i lecznicze.

PRZEWLEKŁA BIAŁACZKA LIMFOCYTOWA

PRZEWODNICZĄCY: T. ROBAK (ŁÓDŹ),
I. HUS (LUBLIN)

Doniesienia ustne

IDEALIZYB W SKOJARZENIU Z RYTUKSYMABEM U CHORYCH NA PRZEWLEKŁĄ BIAŁACZKĘ LIMFOCYTOWĄ W RUTYNOWEJ PRAKTYCE KLINICZNEJ: WSTĘPNE WYNIKI BADANIA OBSERWACYJNEGO POLSKIEJ GRUPY DS. LECZENIA BIAŁACZEK U DOROSŁYCH (PALG)

dr Bartosz Puła¹, dr Katarzyna Budziszewska¹,
dr Justyna Rybka², prof. Lidia Gil³, dr Edyta Subocz⁴,
dr Monika Długosz-Danecka⁵,
dr Anna Waszczuk-Gajda⁶,
dr Elżbieta Iskierka-Jażdżewska⁷,
dr Agnieszka Kopacz⁸, dr Agnieszka Szymczyk⁹,
prof. Krzysztof Warzocha¹, prof. Krzysztof Jamrozia¹

¹Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

³Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

⁴Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie

⁵Klinika Hematologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

⁶Klinika Chorób Wewnętrznych, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁷Klinika Hematologii, Wojewódzkie Wielospecjalistyczne Centrum Onkologii i Traumatologii im. M. Kopernika, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

⁸Klinika Hematologii, Kliniczny Szpital Wojewódzki nr 1 w Rzeszowie

⁹Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Badania kliniczne idelalizybu wykazały jego wysoką aktywność w leczeniu przewlekłej białaczki limfocytowej (CLL), jednak u części pacjentów opisano również poważne działania niepożądane. Aktualnie istnieje niewiele doniesień dotyczących skuteczności i tolerancji leczenia idelalizybem w połączeniu z rytuksymabem w codziennej praktyce klinicznej.

Cel: Celem pracy było określenie skuteczności oraz profilu działań niepożądanych terapii idelalizybem w skojarzeniu z rytuksymabem u chorych na CLL leczo-

nych w rutynowej praktyce klinicznej i monitorowanych w ramach prospektywnego badania obserwacyjnego Polskiej Grupy ds. Leczenia Białaczek u Dorosłych (PALG).

Materiał i metody: Do wieloośrodkowego badania obserwacyjnego PALG włączono dotychczas 30 chorych z nawrotową i oporną postacią CLL. Planowane leczenie obejmowało stosowanie idelalizybu w początkowej dawce 2 x 150 mg podawanej doustnie, w skojarzeniu z 8 infuzjami rytuksymabu, zgodnie ze schematem stosowanym w badaniu 312-0116. Mediana wieku w analizowanej grupie wynosiła 63 lata (zakres 33–77). Mediana wcześniejszych linii leczenia wynosiła 3 (zakres 1–7). U 11 (37%) pacjentów wykazano obecność złe rokującej delecji ramienia krótkiego chromosomu 17 (del 17p).

Wyniki i wnioski: Odsetek odpowiedzi na terapię w analizowanej grupie wyniósł 77% (23/30 pacjentów) przy medianie obserwacji wynoszącej 8,6 miesiąca (zakres 0,26–21,3). Całkowitą remisję zaobserwowano u 5 pacjentów (17%), częściową remisję u 13 (57%), częściową remisję z limfocytozą u 5 (17%), stabilizację choroby u 4 (13%) i progresję choroby u 2 (7%). Z uwagi na krótki czas leczenia odpowiedzi nie określono u 1 chorego. Mediana czasu przeżycia wolnego od progresji (*progression-free survival* – PFS) oraz całkowitego przeżycia (*overall survival* – OS) nie została osiągnięta. Estymowany odsetek chorych bez progresji oraz chorych żyjących po 12 miesiącach obserwacji, również w przypadku chorych z obecnością złe rokującej delecji 17p, wynosił 86%. Czterech chorych zmarło (2 z powodu infekcji, 2 z powodu progresji CLL). U 15 (50%) pacjentów wystąpiło przynajmniej jedno działanie niepożądane 3. lub 4. stopnia, przy czym do najczęstszych należały neutropenie (5), biegunki (4) oraz zapalenia płuc (3). Wstępne wyniki badania obserwacyjnego PALG wskazują na wysoką aktywność i akceptowalną tolerancję idelalizybu w skojarzeniu z rytuksymabem u chorych na CLL leczonych poza badaniami klinicznymi.

THE BLOCKADE OF PROGRAMMED DEATH-1/PROGRAMMED DEATH-LIGAND 1 SHOWS DIRECT ANTI-LEUKEMIC ACTIVITY AND INHIBITED SPECIFIC, CYTOTOXIC, ANTI-LEUKEMIC T-CELL IMMUNE RESPONSE IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Joanna Zaleska¹, Marta Karp¹, Małgorzata Zajac¹, Katarzyna Skórka¹, Agnieszka Karczmarczyk¹, Maciej Grzywnowicz¹, Waldemar Tomczak², Paulina Własiuk¹, Wojciech Kamysz³, Krzysztof Giannopoulos^{1,4}

¹Department of Experimental Hematooncology, Medical University of Lublin, Lublin, Poland

²Department of Hematooncology and Bone Marrow Transplantation Unit, Medical University of Lublin, Lublin, Poland

³Chair & Department of Inorganic Chemistry, Medical University of Gdansk, Gdansk, Poland

⁴Department of Hematology, St. John's Cancer Center, Lublin, Poland

Introduction: Blockade of the PD-1/PD-L1 signaling pathway in melanoma, lung as well as head and neck cancer is an effective treatment option that induces anti-tumor response of T cells. Clinical trials in relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL) as well as in Richter's syndrome showed differential efficacy of immune checkpoint blockade by anti-PD-1 antibody – pembrolizumab. Recent studies reported unexpected responses in 44% of patients with Richter's syndrome and no responses in 16 relapsed/refractory CLL patients after pembrolizumab treatment. Limited anti-PD-1 efficacy in CLL treatment may be a result of suppression by unidentified additional factors that disrupt immune response restoration. In contrast to solid tumors there are no detailed data about the direct inhibition of PD-1/PD-L1 axis in apoptotic micro-environment of CLL.

Aim: The aim of the study was to characterize the effect of PD-1 or PD-L1 blockade on CLL cells as well as T lymphocytes.

Material and methods: Flow cytometry analyses of PD-1 and PD-L1 molecules were performed in T cells subpopulations and leukemic cells in CLL. Next, direct cytotoxic activity and the ability to induce apoptosis by human anti-PD-1 and anti-PD-L1 monoclonal antibodies in CLL were measured by XTT colorimetric assay and annexin V assay in flow cytometer. Mixed lymphocyte/peptide cultures and ELISpot assays were performed to define the effect of PD-1 blockade on the cytotoxic R3-specific T-cell immune response. Finally, magnetically sorted CD19+ CLL cells were transfected using siRNA against PD-1 mRNA. Next, after 24 h incubation, cells were analyzed for PD-1 expression using qRT-PCR.

Results: We found significantly increased PD-1 expression on CD4+ and CD8+ T cells in CLL patients in

comparison with healthy donors (medians: 31.38 vs. 2.23, $p < 0.0001$; 20.51 vs. 4.49, $p < 0.0001$, respectively). Anti-PD-1 and anti-PD-L1 monoclonal antibodies demonstrated direct cytotoxic effect with the strongest efficacy after 24 h. Furthermore, indirect PD-1 blockade inhibited specific immune response against R3 peptide in 75% of patients. In addition, the silencing of PD-1 molecule in CLL cells was ineffective in restoration of BCR signaling.

Conclusions: We found that the blockade of PD-1 induces cytotoxic effect and apoptosis in CLL patients. We suggest that PD-1/PD-L1 blockade-based immunotherapy should be introduced in CLL carefully analyzing complex immunological consequences of such approaches

PRZYCZYNY PRZERWANIA LECZENIA IBRUTYNIBEM W PROGRAMIE WCZESNEGO DOSTĘPU DO LEKU U CHORYCH Z OPORNĄ LUB NAWROTOWĄ PRZEWLEKŁĄ BIAŁACZKĄ LIMFOCYTOWĄ: BADANIE OBSERWACYJNE POLSKIEJ GRUPY DS. LECZENIA BIAŁACZEK U DOROSŁYCH (PALG)

Elżbieta Iskierka-Jażdżewska¹, Marek Hus², Agnieszka Szymczyk², Aleksandra Gotoś³, Jadwiga Hołojda⁴, Daria Zawirska⁵, Agnieszka Szeremet⁶, Jan Maciej Zaucha^{7,8}, Paweł Steckiewicz⁹, Weronika Piszczek¹⁰, Michał Osowiecki¹¹, Edyta Subocz¹², Anna Waszczuk-Gajda¹³, Beata Kumiega¹⁴, Małgorzata Wojciechowska¹⁵, Wanda Knopińska-Postuszny¹⁶, Krzysztof Giannopoulos¹⁷, Tadeusz Robak¹⁸, Krzysztof Warzocha³, prof. Krzysztof Jamrozak³

¹Klinika Hematologii, Wojewódzkie Wielospecjalistyczne Centrum Onkologii i Traumatologii im. M. Kopernika w Łodzi

²Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁴Oddział Hematologiczny, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Legnicy

⁵Oddział Kliniczny Hematologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

⁶Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego nr 1 we Wrocławiu

⁷Gdyńskie Centrum Onkologii – Szpital Morski im. PCK, Gdynia, Polska

⁸Zakład Propedeutyki Onkologii, Uniwersytet Medyczny, Gdańsk, Polska

⁹Oddział Hematologiczny, Świętokrzyskie Centrum Onkologii, Kielce, Polska

¹⁰Klinika Hematologii, Szpital im. M. Kopernika, Toruń, Polska

¹¹Klinika Nowotworów Układu Chłonnego, Centrum Onkologii – Instytut, Warszawa, Polska

¹²Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa, Polska

¹³Klinika Chorób Wewnętrznych, Hematologii i Onkologii, Samodzielny Publiczny Centralny Szpital Kliniczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska

¹⁴Oddział Hematologii Onkologicznej Szpitala Specjalistycznego w Brzozowie, Podkarpacki Ośrodek Onkologiczny, Brzozów, Polska

¹⁵Oddział Hematologiczny, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny, Olsztyn, Polska

¹⁶Oddział Hematologiczny, SP ZOZ z Warmińsko-Mazurskim Centrum Onkologii MSW, Olsztyn, Polska

¹⁷Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny, Lublin, Polska

¹⁸Klinika Hematologii, Wojewódzkie Wielospecjalistyczne Centrum Onkologii i Traumatologii im. M. Kopernika w Łodzi

Wstęp: Skuteczność terapii ibrutinibem w przewlekłej białaczce limfocytowej (*chronic lymphocytic leukaemia* – CLL) została potwierdzona zarówno w badaniach klinicznych, jak i w rutynowej praktyce klinicznej. Mimo zadowalających wskaźników odpowiedzi na leczenie oraz dobrej tolerancji terapii u większości chorych, u pewnej grupy pacjentów konieczne jest jednak przerwanie leczenia ibrutinibem. Szczegółowe poznanie przyczyn zakończenia leczenia ibrutinibem ma istotne znaczenie, ponieważ dotychczasowe badania wskazują, że rokowanie w tej grupie chorych jest bardzo niekorzystne.

Cel: Celem pracy była dokładna analiza przyczyn zakończenia terapii ibrutinibem u pacjentów z nawrotową lub oporną CLL leczonych w programie wczesnego dostępu do ibrutinibu i monitorowanych w badaniu obserwacyjnym Polskiej Grupy ds. Leczenia Białaczek u Dorosłych (PALG). Ponadto oceniano przebieg i wyniki leczenia kolejnych linii terapii po zakończeniu leczenia ibrutinibem.

Materiał i metody: Do badania włączono 37 chorych z oporną lub nawrotową CLL, u których zakończono leczenie ibrutinibem. W analizowanej grupie mediana wieku wynosiła 64 lata (zakres 46–84). Pacjenci przed rozpoczęciem terapii z ibrutinibem otrzymali od 1 do 10 linii leczenia (mediana 3). Delecję 17p stwierdzono u 7 chorych spośród 20, u których wykonano badanie cytogenetyczne metodą FISH.

Wyniki: Mediana czasu leczenia ibrutinibem wynosiła 4,4 miesiąca (zakres 0,2–25,2). Do głównych przyczyn odstawienia ibrutinibu należały poważne działania niepożądane oraz progresja choroby. Wśród 14 chorych (38%) ze stwierdzoną progresją u 3 zdiagnozowano zespół Richtera w postaci transformacji do chłoniaka Hodgkina. U 20 pacjentów (54%) zakończono leczenie ibrutinibem z powodu działań niepożądanych, wśród których dominowały infekcje górnych i dolnych dróg oddechowych (24%). U dwóch chorych (5,4%) terapię ibrutinibem zakończono z powodu decyzji chorego. Jeden chory (2,6%) przestał zgłaszać się na

kontynuację leczenia. Mediana czasu całkowitego przeżycia po zakończeniu leczenia inhibitorem BTK wynosiła 1,8 miesiąca (zakres 0,2–16,7 miesiąca). Porównując wskaźniki przeżycia u chorych, u których zakończono leczenie ibrutinibem z powodu działań niepożądanych względem pacjentów z progresją choroby w trakcie terapii, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic.

Wnioski: Wyniki naszej analizy potwierdzają, że niezależnie od przyczyny zakończenie terapii ibrutinibem u pacjentów z oporną lub nawrotową CLL wiąże się z niekorzystnym rokowaniem.

Plakaty

P1. PROGNOSTYCZNE ZNACZENIE AKTYWNOŚCI KINAZY TYMIDYNOWEJ U CHORYCH NA PRZEWLEKŁĄ BIAŁACZKĘ LIMFOCYTOWĄ W ODNIESIENIU DO INNYCH CZYNNIKÓW PROGNOSTYCZNYCH I ZASTOSOWANEGO LECZENIA

dr Piotr Stelmach, dr Jerzy Błoński,
dr Ewa Wawrzyniak, prof. Tadeusz Robak

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Wstęp: Markery surowicze, w tym kinaza tymidynowa (TK), choć nie są specyficzne dla przewlekłej białaczki limfocytowej (PBL), to dobrze odzwierciedlają aktywność i przebieg choroby. TK bierze udział w syntezie nici DNA i wykazuje korelację z aktywnością proliferacyjną w PBL. Wcześniejsze wyniki badań wskazywały na prognostyczne znaczenie aktywności enzymu u pacjentów z chorobami limfoproliferacyjnymi.

Cel: Określenie znaczenia prognostycznego aktywności TK w surowicy chorych na PBL z uwzględnieniem metod leczenia oraz porównanie wartości prognostycznej TK z innymi czynnikami prognostycznymi i predykcyjnymi.

Materiał i metody: Analizie poddano 67 nieleczonych chorych. Aktywność TK w surowicy oceniano za pomocą sondy DiviTum®. Aktywność oceniano dwukrotnie z tej samej próbki. Materiałem do badań aberracji chromosomowych metodą FISH była krew obwodowa pobrana przed rozpoczęciem leczenia. Zastosowano standardowy panel sond: dla del13q14, del11q22 (ATM), del17p13 (TP53), trisomii 12. Do weryfikacji różnic między grupami stosowano analizę wariancji i test Kruskala-Wallisa. Analizę przeżycia wraz z konstrukcją krzywych Kaplana-Meiera uzupełniono analizą w jedno- i wieloczynnikowym modelu regresji Coxa.

Wyniki: Średnia aktywność TK wynosiła odpowiednio 439 Du/l i 431 Du/l w I i II badaniu. Ustalono optymalną zdolność dyskryminacyjną w przewidywaniu progresji choroby dla TK > 600 Du/l. Wykazano korelację aktywności TK z czasem do progresji po leczeniu I linii. Stwierdzono znacznie krótszy PFS u chorych z wartościami TK powyżej 600 Du/l w porównaniu z grupą

z aktywnością poniżej punktu odcięcia (12 vs 31 miesięcy). Obserwowano istotne różnice w aktywności TK pomiędzy pacjentami uzyskującymi CR i pacjentami, którzy jej nie uzyskali. Ponad 90% chorych bez odpowiedzi na leczenie wykazywało aktywność TK > 600 Du/l. Wszyscy chorzy z obecnością del17p wykazywali aktywność TK > 600 Du/l. Aktywność TK (> 600 Du/l) korelowała z wysokimi wartościami LDH i β_2 -mikroglobuliny.

Wnioski: Przeprowadzona analiza wykazała istotną rolę prognostyczną TK u chorych na PBL. Wysoka aktywność enzymu pozwala przewidzieć stopień odpowiedzi na leczenie oraz czas wolny od progresji po zastosowanej terapii. Ocena aktywności TK wraz z parametrami klinicznymi oraz molekularnymi (del17p) może znaleźć zastosowanie we wstępnej ocenie chorych z PBL, umożliwiając zaplanowanie optymalnej opieki ambulatoryjnej oraz procesu terapeutycznego.

Introduction: Thymidine kinase (TK) activity is a marker of biological activity that allows the indolent and aggressive forms of chronic lymphocytic leukemia (CLL) to be distinguished.

Aim: The aims of the study were to determine the relationship between TK activity and clinical status and prognosis, and to compare its activity with those of other prognostic and predictive factors.

Material and methods: Prognosis, and to compare its activity with those of other prognostic and predictive factors. TK activity was measured in patient sera twice at the time of diagnosis using the DiviTum® method, with the mean values being 439 Du/l and 431 Du/l. A strong correlation was found between TK activity and the risk of disease progression.

Results and conclusions: The optimal discriminative value of TK activity in the prediction of CLL progression was found to be 600 Du/l. TK activity significantly differed among the patients who achieved complete remission and those who only partially responded to therapy. Over 93% of patients without any response to treatment and 18 out of 20 patients with progressive disease presented TK activity over 600 Du/l. In addition, all of the 10 patients with 17p deletion displayed TK activity of over 600 Du/l. High TK activity also correlated with elevated levels of LDH and β_2 -microglobulin in the study group. The results of the study indicated the importance of TK activity as a prognostic factor in patients with CLL.

P2. EXPRESSION, LOCALIZATION AND ACTIVITY PROFILE OF AUTOANTIGEN, COFILIN-1, IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

mgr inż. Marta Karp¹, mgr Michał Chojnacki¹, mgr Magda Gąsior², dr Agnieszka Karczmarczyk¹, mgr Maciej Korpysz³, dr Małgorzata Zając¹, mgr Joanna Purkot¹, mgr Katarzyna Skórka¹, mgr Joanna Zaleska¹, dr hab. Paulina Własiuk¹, dr Waldemar Tomczak⁴, prof. dr hab. Krzysztof Giannopoulos¹

¹Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Katedra i Klinika Neurologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Zakład Diagnostyki Biochemicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁴Katedra i Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Introduction: Etiology of chronic lymphocytic leukemia (CLL) remains unknown despite numerous studies. However, current hypothesis of autoantigen stimulation in leukemic clone selection might explain "stereotypy" of B cell receptors. Moreover, in CLL monoclonal antibodies were found with high affinity for cytoskeletal proteins, including cofilin-1 (CFL-1). CFL-1 is a member of ADF-cofilin family participating in many functions in Eukaryote, including apoptotic bodies formation and transcription regulation. Role and prognostic value of this molecule was described in several malignancies. Taking into consideration reports regarding CFL-1 function in various cancers and the fact that CFL-1 is an autoantigen for monoclonal antibodies in CLL, this protein might have crucial role in CLL pathology.

Aim: The aim of the study was investigation of CFL-1 transcript and protein expression, protein activity and localization in CLL cells.

Material and methods: Peripheral blood mononuclear cells were isolated from 159 CLL patients and 42 healthy volunteers (HVs). CFL-1 gene expression was evaluated with quantitative polymerase chain reaction, protein expression was verified using flow cytometry. Levels of phosphorylated and total CFL-1 protein, indicating activity of the molecule, was assessed with western blot. Intracellular localization of CFL-1 in leukemic cells was evaluated with confocal microscopy.

Results: We found significantly higher expression of CFL-1 gene in CLL cells when compared to HVs. We did not observe correlation of CFL-1 mRNA or protein with any known prognostic markers, morphology parameters, sex or age. However, higher CFL-1 mRNA level in patients with mutated NOTCH1 gene was observed. High activity of CFL-1 protein in all analyzed samples disregard of prognostic factors was detected with western blot. Using confocal microscopy we evaluated lo-

calization of CFL-1 in CD19+ cells together with nuclei visualization. CFL-1 was equally distributed throughout the cytoplasm in majority of samples, although in some cells protein was enriched around membrane area, but was absent in nuclei.

Conclusions: We observed significantly higher expression of CFL-1 mRNA in CLL in comparison to HVs with equal distribution in all patient subgroups, what might indicate high utilization of CFL-1 in malignant cells. High CFL-1 activity and its equal distribution in cytosol might demonstrate contribution of CFL-1 in disease mechanism.

P3. ZNACZENIE KOMÓREK NKT17 (VA24-JA18+CD3+IL-17+RORγt+) U CHORYCH NA PRZEWLEKŁĄ BIAŁACZKĘ LIMFOCYTOWĄ (PBL)

dr hab. Agnieszka Bojarska-Junak¹,
mgr Agata Szymańska², prof. dr hab. Iwona Hus²,
Monika Jezior¹, prof. dr hab. Jacek Roliński

¹Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Samodzielna Pracownia Transplantologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Komórki NKT stanowią zróżnicowaną grupę limfocytów T. W oparciu o ekspresję określonych czynników transkrypcyjnych oraz rodzaj wydzielanych cytokin komórki NKT podzielono na subpopulacje w sposób przypominający podział konwencjonalnych limfocytów T (Th1, Th2 czy TH17). Subpopulacje NKT1, NKT2 oraz NKT17 wykazują odpowiednio ekspresję T-bet, GATA3 oraz RORγt. Duże zainteresowanie wzbudzają aktualnie komórki NKT17 wydzielające IL-17. Cytokina ta ma silne właściwości prozapalne.

Cel: Celem pracy była ocena odsetka komórek NKT17 we krwi obwodowej chorych na PBL oraz określenie związku pomiędzy liczbą komórek NKT17 a wybranymi parametrami prognostycznymi w PBL.

Materiał i metody: Badaniami objęto grupę 50 chorych na PBL, grupę kontrolną stanowiło 20 zdrowych dawców. Do oceny komórek NKT17 we krwi obwodowej wykorzystano metodę cytometrii przepływowej. Zastosowano przeciwciała monoklonalne: FITC Mouse Anti-Human invariant NKT cell; BD Horizon V450 Mouse Anti-Human CD3; PerCP-Cy5.5 Mouse Anti-Human IL-17A; PE Mouse anti-Human RORγt (BD).

Wyniki: Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano istotnie wyższy odsetek komórek iNKT z wewnątrzkomórkową ekspresją IL-17 oraz RORγt u chorych na PBL (22,13%) w porównaniu z grupą kontrolną (9,88%) ($p < 0,001$). Obserwowano również wyższy odsetek komórek NKT17 u chorych ZAP-70(–) w porównaniu z grupą chorych ZAP-70(+) (24,56% vs

19,03%), a także u chorych CD38(–) w stosunku do chorych CD38(+) (24,34% vs 19,07%) ($p < 0,05$). Ponadto wykazano istotnie wyższy odsetek komórek NKT17 u chorych w stadium 0 wg Raia w porównaniu z chorymi w stadiach I–II oraz III–IV wg Raia ($p < 0,01$). Obserwowano ujemną korelację między odsetkiem komórek NKT17 a poziomem β_2 -mikroglobuliny ($R = -0,29$; $p < 0,05$). Stwierdzono natomiast dodatnią korelację między odsetkiem komórek iNKT z wewnątrzkomórkową ekspresją IL-17 a odsetkiem komórek iNKT z ekspresją IFN- γ ($R = 0,419$; $p < 0,05$), a także dodatnią korelację między odsetkiem komórek NKT17 a odsetkiem limfocytów Th17 ($R = 0,35$; $p < 0,05$).

Wnioski: Wyniki przeprowadzonych badań sugerują istotne znaczenie komórek NKT17 w mikrośrodoisku PBL. Obserwowana w badaniach dodatnia korelacja między odsetkiem komórek NKT+IL-17+ a odsetkiem limfocytów Th17 oraz odsetkiem komórek NKT+IFN- γ u chorych na PBL może świadczyć, że komórki te, podobnie jak limfocyty Th17 oraz komórki NKT+IFN- γ , uczestniczą w odpowiedzi przeciwnowotworowej. Dokładne określenie roli komórek V α 24-J α 18+CD3+IL-17+RORγt+ w rozwoju i patogenezie PBL wymaga dalszych badań.

P4. ZNACZENIE EKSPRESJI RECEPTORA TLR2 NA BIAŁACZKOWYCH LIMFOCYTACH B U CHORYCH NA PRZEWLEKŁĄ BIAŁACZKĘ LIMFOCYTOWĄ

mgr Agata Szymańska¹,
dr hab. Agnieszka Bojarska-Junak²,
dr Waldemar Tomczak³, dr Justyna Woś²,
prof. dr hab. Jacek Roliński², prof. dr hab. Iwona Hus¹

¹Samodzielna Pracownia Transplantologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Przewlekła białaczka limfocytowa (PBL) jest najczęściej diagnozowanym typem białaczki u osób dorosłych w społeczeństwach półkuli zachodniej. Dotychczasowe badania wskazują na istotne znaczenie stymulacji antygenowej w rozwoju PBL. W interakcjach między mikrośrodowiskiem a komórkami białaczkowymi kluczową rolę odgrywa receptor BCR (*B-cell receptor*), ale ważną funkcję przypisuje się również receptorom Toll-podobnym (*Toll-like receptors* – TLR). Uważa się, że zaburzenia ekspresji receptorów Toll-podobnych mogą mieć znaczenie w rozwoju przewlekłej białaczki limfocytowej.

Cel: Celem pracy była ocena ekspresji TLR2 na białaczkowych limfocytach B u chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową.

Materiał i metody: Badaniami objęto grupę 80 chorych na PBL oraz 30 zdrowych dawców. Materiałem do badań była krew obwodowa. Do oceny ekspresji receptorów TLR2 na białaczkowych limfocytach B wykorzystano metodę cytometrii przepływową. Zastosowano przeciwciała monoklonalne anti-CD19 PE i anti-CD282 FITC (BD).

Wyniki: W przeprowadzonych badaniach wykazano niższy odsetek komórek TLR2+/CD19+ u chorych na PBL w porównaniu z grupą kontrolną (0,38% vs 1,58%) ($p < 0,05$). Wykazano istotnie niższy odsetek TLR2+/CD19+ u chorych z ekspresją ZAP-70 (0,25%) w porównaniu z chorymi ZAP-70- (1,06%) ($p < 0,01$). Odsetek komórek TLR2+/CD19+ był również istotnie niższy w grupie chorych CD38+ (0,26%) w porównaniu z chorymi CD38- (0,98%) ($p < 0,01$). Niższy odsetek komórek TLR2+/CD19+ wykazano u chorych z delecją 17p i/lub 11q (0,20%) w porównaniu z chorymi bez tych aberracji cytogenetycznych (0,70%) ($p < 0,01$). Stwierdzono ponadto wyższy odsetek komórek TLR2+/CD19+ w grupie chorych z del(13q14) (0,72%) w porównaniu z chorymi z del(11q22) i/lub del(17p13) (0,24%) oraz chorymi bez aberracji cytogenetycznych (0,49%).

Wnioski: Obserwowany w badaniach niski odsetek limfocytów B z ekspresją TLR2 u chorych na PBL związany jest prawdopodobnie z upośledzeniem układu odporności, które może prowadzić do rozwoju częstych zakażeń, co z kolei może się przyczyniać do rozwoju białaczki. Przedstawione dane przemawiają za hipotezą dotyczącą istotnej roli zakażeń w patogenezie PBL. Istotna zależność między odsetkiem komórek TLR2+/CD19+ a obecnością aberracji chromosomowych del(17p), del(11q), ekspresją CD38, ZAP-70 sugeruje znaczenie prognostyczne odsetka limfocytów B z ekspresją receptorów TLR2 u chorych na PBL.

(average age 62.5 years) and 19 men aged 54-78 years (average age 62.5 years) were examined by us. We investigated their clinical outcomes, prognostic characteristics and outcomes of treatment.

Results: In result of the study among the 35 surveyed our patients with CLL, the most common form of autoimmune cytopenia was autoimmune hemolytic anemia (AIHA) (22 patients), with a lower frequency of immune thrombocytopenia (ITP) (7 patients) and Fisher-Evans syndrome (4 patients). One patient had pure red blood cell aplasia (PRBCA), and one patient had autoimmune neutropenia (AIN). Autoimmune thrombocytopenias are more common in male patients in the early stages of the disease. Autoimmune hemolytic anemia developed in 2 patients treated with leukeran, in 2 patients after treatment COP (cyclophosphamide, vincristine, prednisone), and in one patient after treatment FC (fludarabine, cyclophosphamide). Fisher-Evans syndrome developed in one patient during treatment with leukeran. Among prognostic markers of CLL in all patients revealed high rates of CD38 and the β_2 -microglobulin (β_2 -MG). Genetic markers were determined in 13 patients. 3 patients we revealed with del (11q), and 2 patients with del (11q) in combination with del (17p). According to the literature, this association occurs in 1% of patients with CLL and is regarded prognostically very unfavorable.

Conclusions: The best results in the treatment of many autoimmune cytopenias were obtained with the use of rituximab in monotherapy (375 mg/m² weekly for 4 weeks) or in combination with cytotoxic drugs (R-COP) or (R-CHOP).

P5. THE PECULIARITIES OF IMMUNE COMPLICATIONS OF PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Olha Vyhovska

SI "Institute of Blood Pathology and Transfusion Medicine NAMS of Ukraine", Lviv, Ukraine

Introduction: Chronic lymphocytic leukemia (CLL) may be complicated by immune cytopenia. Patients with CLL commonly develop complications associated with the intrinsic immune dysfunction that results in immunodeficiency and the development of autoimmune cytopenias. A number of special approaches have been proposed to treat these patients.

Aim: To investigate the incidence of autoimmune complications, clinical features and treatment of autoimmune complications in CLL patients.

Material and methods: 35 CLL patients with autoimmune complications, 16 women aged 49-76 years

P6. CHARAKTERYSTYKA MIKROŚRODOWISKA BIAŁACZKOWYCH LIMFOCYTÓW B W PRZEBIEGU PRZEWLEKŁEJ BIAŁACZKI LIMFOCYTOWEJ. BADANIA WSTĘPNE

mgr Sylwia Popek¹, Aleksandra Szczepanek²,
dr n. med. Szymon Zmorzyński¹,
lek. Michał Marciniak¹, dr n. med. Dorota Koczkodaj¹,
dr hab. n. med. Marek Hus², dr hab. n. med. Agata Filip¹

¹Zakład Genetyki Nowotworów z Pracownią Cytogenetyczną, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 4 w Lublinie

²Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Mikrośrodkowisko towarzyszące białaczkowym limfocytom B promuje ich przeżycie oraz lekooporność. Na kształtowanie się otoczenia komórek B w węzłach chłonnych oraz szpiku kostnym wpływają interakcje międzykomórkowe. Dobrze poznanym składnikiem mikrośrodkowiska są komórki opiekuńcze (*nurse*

like-cells – NLCs), które różnicują się z monocytów w obecności komórek białaczkowych. Komórki NLCs wydzielają szereg chemokin, które mogą mieć znaczenie w przebiegu choroby. Na szczególną uwagę zasługują: interleukina 8, chemokiny CCL3, BIRC5 (surwiwina), rozpuszczalna postać receptora CD163 (sCD163) oraz JAG1 (ligand dla receptora NOTCH1).

Cel: Celem pracy była analiza poziomu wybranych chemokin w surowicy krwi chorych na PBL oraz w medium hodowlanym kohodowli komórek białaczkowych z NLCs.

Materiał i metody: Materiał do badań stanowiła surowica krwi obwodowej pobranej od 34 kolejnych zdiagnozowanych i nieleczonych chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową, przyjętych do Kliniki Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku. Drugą część materiału stanowiło medium hodowlane kolekcjonowane po 6 dniach hodowli komórek białaczkowych z komórkami NLCs. Uzyskane próbki analizowano pod kątem obecności chemokin: CCL3, surwiwiny, IL-8 oraz cząsteczek sCD163 i JAG1, przy użyciu testów ELISA. Uzyskane wyniki skorelowano z liczbą NLCs oraz danymi klinicznymi.

Wyniki: Wykazano pozytywną korelację między poziomem chemokiny CCL3 w surowicy krwi przebadanych chorych a stopniem zaawansowania choroby wg Raia ($p = 0,005$). Dodatkowo istnieje liniowa zależność między poziomem CCL3 w surowicy chorych a poziomem ekspresji kinazy ZAP-70 ($p = 0,004$). Pozytywną zależność liniową stwierdzono także między stopniem leukocytozy (liczbą komórek WBC) a poziomem IL-8 w surowicy krwi chorych ($p = 0,002$). Poziom cząsteczki JAG1 w surowicy krwi pozytywnie korelował z poziomem ekspresji antygenów różnicowania komórek białaczkowych CD5 oraz CD19 (odpowiednio $p = 0,034$, $p = 0,007$).

Wnioski: Charakterystyka czynników wpływających na kształtowanie mikrośrodowiska komórek dostarcza dodatkowych informacji dotyczących przebiegu choroby. Z przedstawionych danych wynika, że istotne znaczenie kliniczne może mieć chemokina CCL3 oraz rozpuszczalna forma liganda dla receptora NOTCH1, czyli cząsteczka JAG1. Prezentowane dane są wynikiem badań wstępnych. Niezbędne jest poszerzenie grupy chorych oraz analizowanych parametrów.

P7. WZROST UWALNIANIA MIKROCZĄSTEK U PACJENTÓW Z WYBRANYMI CHOROBYMI ROZROSTOWYMI KRWI

mgr Mateusz Dziemiańczuk^{1,2},
dr n. med. Magdalena Bujno^{1,2},
dr n. med. Alina Lipska^{1,2},
dr hab. n. med. Jarosław Piszcz³,
Anna Rogowska¹, dr n. med. Marzena Galar³,
prof. dr hab. n. med. Janusz Kłoczko³,
prof. dr hab. n. med. Piotr Radziwon^{1,2}

¹Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecnicstwa w Białymstoku

²Klinika Hematologii z Pododdziałem Chorób Naczyń, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

³Klinika Hematologii z Pododdziałem Chorób Naczyń, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Wstęp: W wielu stanach patologicznych obserwuje się wzrost ilości mikrocząstek pochodzących z komórek krwi. Mikrocząstki wykazują działanie pro- i antykoagulacyjne i mają ścisły związek z wrodzonymi zaburzeniami czynności płytek krwi, małopłytkowością indukowaną heparyną oraz zakrzepicą żył głębokich.

Cel: Określenie ilości uwalnianych mikrocząstek pochodzących z komórek krwi i śródbłonna oraz wybranych markerów układu hemostazy u pacjentów z czerwienicą prawdziwą (PV), nadpłytkowością samoistną (ET) i przewlekłą białaczką limfocytową (CLL) przed rozpoczęciem leczenia.

Materiał i metody: Materiałem do badań była krew żylna pobrana od pacjentów przyjętych na oddział z rozpoznaniem PV, ET oraz CLL. Grupę kontrolną stanowił materiał pobrany od zdrowych ochotników. Badano: morfologię krwi obwodowej, podstawowe markery układu hemostazy – PT, APTT, stężenie fibrynogenu i D-dimerów oraz oznaczono ilość mikrocząstek pochodzenia płytkowego, leukocytarnego, erytrocytarnego oraz śródbłonkowego przy użyciu cytometru przepływowego z zastosowaniem mieszaniny znakowanych przeciwciał: CD235, CD45, CD42b oraz CD144.

Wyniki i wnioski: We wszystkich badanych jednostkach chorobowych wykazano istotny statystycznie wzrost ilości wszystkich badanych typów mikrocząstek w odniesieniu do grupy kontrolnej. W przypadku PV obserwowano znacznie zwiększoną ilość mikrocząstek pochodzenia erytrocytarnego, natomiast w ET stwierdzono dominujący wzrost odsetka procentowego mikrocząstek pochodzenia płytkowego w stosunku do pozostałych populacji mikrocząstek. W PV zauważalne jest wydłużenie APTT, wzrost stężenia fibrynogenu oraz wzrost stężenia D-dimerów w porównaniu z grupą kontrolną. W przebiegu ET wydłużone były PT i APTT, a także podwyższone stężenie fibrynogenu. W przypadku CLL obserwowano wzrost stężenia fibrynogenu oraz D-dimerów. Choroby rozrostowe krwi stymulują uwalnianie mikrocząstek z komórek krwi i śródbłonna.

Najwięcej mikrocząstek w chorobach rozrostowych jest uwalnianych z komórek, których dotyczy rozrost nowotworowy. W momencie rozpoznania wyżej wymienionych chorób u pacjentów zauważalne jest zaburzenie funkcjonowania układu hemostazy. Aby szerzej poznać wpływ mikrocząstek na występowanie potencjalnych powikłań zakrzepowo-zatorowych i krwotocznych, konieczne są dalsze badania.

P8. TRANSFORMACJA PRZEWLEKŁEJ BIAŁACZKI LIMFOCYTOWEJ DO CHŁONIAKA HODGKINA – ANALIZA WIELOOŚRODKOWA POLSKIEJ GRUPY BADAWCZEJ CHŁONIAKÓW (PLRG)

dr n. med. Joanna Drozd-Sokołowska¹,
prof. Jan Maciej Zaucha², prof. Krzysztof Jamrozak³,
dr Olga Grzybowska-Izydorczyk⁴,
dr Anna Waszczuk-Gajda¹,
dr hab. Maciej Kaźmierczak⁵,
dr Andrzej Szczepaniak⁵, dr Edyta Subocz⁶,
dr Wanda Knopińska-Postuszny⁷,
dr Jadwiga Hołojda⁸, dr Anna Kopińska⁹,
prof. Iwona Hus¹⁰, dr Justyna Rybka¹¹,
prof. Dariusz Wołowicz¹¹,
dr Magdalena Witkowska¹², prof. Piotr Smolewski¹²,
prof. Wiesław Wiktor-Jędrzejczak¹

¹Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Oddział Onkologii i Radioterapii, Gdyńskie Centrum Onkologii i Zakład Propedeutyki Onkologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

³Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁴Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

⁵Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

⁶Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowy Instytut Medyczny, Centralny Szpital Kliniczny MON w Warszawie

⁷Oddział Hematologii, Warmińsko-Mazurskie Centrum Onkologii MSW w Olsztynie

⁸Oddział Hematologiczny Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego w Legnicy

⁹Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

¹⁰Samodzielna Pracownia Transplantologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

¹¹Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

¹²Zakład Hematologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Wstęp: U 5–15% chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową (CLL) dochodzi do transformacji do chłoniaka o wyższym stopniu złośliwości, najczęściej DLBCL. Możliwa, ale znacznie rzadsza jest transformacja do

chłoniaka Hodgkina (HL). Dane na ten temat są ciągle ograniczone.

Cel: Analiza charakterystyki klinicznej chorych na CLL, u których wystąpiła transformacja CLL do HL, oraz ocena skuteczności leczenia tej transformacji.

Materiał i metody: Retrospektywną analizą objęto 21 chorych, w tym 16 mężczyzn, u których w przebiegu CLL doszło do transformacji do HL. Mediana wieku w momencie rozpoznania CLL wynosiła 59 lat (39–77), w momencie rozpoznania HL – 65 lat (40–77). Mediana czasu od rozpoznania CLL do rozpoznania HL wynosiła 36 miesięcy (0–187). W 1 przypadku było to rozpoznanie równoczesne. Leczenie z powodu CLL przed rozpoznaniem HL stosowano u 19 chorych, mediana liczby linii chemioterapii wynosiła 2 (1–7). U 18 chorych stosowano analogi puryn (fludarabina – 10, kładrybina – 6, fludarabina i kładrybina – 2).

Wyniki: Podtyp chłoniaka Hodgkina określono u 15 chorych (NS – 7, MC – 8). U wszystkich chorych rozpoznano chorobę zaawansowaną (stadium IIB – 1, III i IV – 19), u 6 z zajęciem struktur pozawęzłowych (kości i szpik). U 14 z 15 chorych, u których dostępne były pełne dane, stwierdzano równocześnie aktywną CLL, u 1 chorego obecna była remisja całkowita CLL. W ramach leczenia pierwszej linii 12 chorych otrzymało ABVD, 1 – BEACOPP, 1 – IGEV, 1 – BGD, 1 – COPP, 2 – leczenie paliatywne (CVP i VCR+PDN). Leczenia nie zastosowano u 2 chorych, dane o leczeniu 1 chorego nie są kompletne. Odpowiedź uzyskano u 8 z 17 chorych (47%), w tym u 5 remisję całkowitą (29%) (u 2 chorych leczenie nadal trwało w trakcie analizy); ORR dla chorych leczonych ABVD wynosił 64% (CR – 45%). Przeżycie było istotnie dłuższe w grupie leczonej ABVD w porównaniu z innymi schematami ($p = 0,02$). Mediana przeżycia całkowitego w grupie leczonej z powodu CLL kładrybiną wynosiła 4 miesiące, w grupie leczonej fludarabiną 18,2 miesiąca ($p > 0,05$). Mediana przeżycia całkowitego dla całej grupy wyniosła 16,1 miesiąca (95% CI, 5,4 – Inf). Pięciu chorych zmarło z powodu chłoniaka Hodgkina, 2 z powodu powikłań infekcyjnych, 1 osoba w przebiegu wyniszczenia.

Wnioski: Transformacja CLL do HL częściej występuje u mężczyzn. Przeżycie chorych z transformacją CLL do HL jest złe. Zastosowanie chemioterapii typowej dla HL pozwala na uzyskanie odpowiedzi rzadziej niż u chorych na HL bez poprzedzającej CLL.

P9. INFILTRACJA BIAŁACZKOWA OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO – RZADKIE, LECZ MOŻLIWE POWIKŁANIE PRZEWLEKŁEJ BIAŁACZKI LIMFOCYTOWEJ

dr hab. n. med. Ewa Wąsik-Szczepanek¹,
dr n. med. Dariusz Szczepanek²,
lek., mgr Agnieszka Szymczyk^{1,3},
dr n. med. Małgorzata Wach¹,
dr n. med. Maria Cioch¹, Aleksandra Szczepanek⁴,
dr hab. n. med. Marek Hus^{1,3}

¹Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Klinika Neurochirurgii i Neurochirurgii Dziecięcej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Samodzielna Pracownia Transplantologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁴Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Przewlekła białaczka limfocytowa (PBL) należy do typu proliferacji, w przypadku której zajęcie ośrodkowego układu nerwowego (OUN) jest wyjątkowo rzadko brane pod uwagę, w przeciwieństwie do powikłań infekcyjnych, immunologicznych czy transformacji w zespół Richtera. Brakuje obecnie zarówno ustalonych czynników ryzyka, jak i jednolitych schematów leczenia. Wynika to przede wszystkim z niewielkiej grupy chorych przedstawionych z tym problemem.

Cel: Celem pracy była charakterystyka grupy chorych z zajęciem OUN w przebiegu PBL oraz przedstawienie procesu diagnostyczno-terapeutycznego.

Materiał i metody: Na podstawie retrospektywnej analizy dokonano oceny parametrów klinicznych, biologicznych i radiologicznych chorych na PBL z zajęciem OUN, w okresie od lutego 2007 r. do marca 2015 r. U każdego z badanych przeprowadzono diagnostykę radiologiczną. U 5 z nich wykonano nakłucie lędźwiowe z pobraniem płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR). Badanie PMR obejmowało ocenę cytologiczną, biochemiczną, cytometryczną i mikrobiologiczną. W trzech przypadkach pobrano materiał do badania histopatologicznego.

Wyniki: Analizie poddano 7 chorych (4 mężczyzn i 3 kobiety) w wieku 43–76 lat (w tym jeden chory z zespołem Richtera i jeden z białaczką prolimfocytową). Znajdowali się w stadium 0–3 wg klasyfikacji Raia i wsp. i wykazywali zróżnicowane objawy neurologiczne (ból głowy, zaburzenia orientacji, zaburzenia mowy). Rozpoznanie ustalono na podstawie badania cytometrycznego PMR u 5 chorych oraz histopatologicznego u 3 chorych (u 2 w badaniu autopsyjnym). W trzech przypadkach zastosowano leczenie intratekalne (metotreksat, cytosar, prednizon), a w jednym przeprowadzono zabieg neurochirurgiczny (całkowitą resekcję guza zlokalizowanego w oczodole) oraz następową radioterapię. Trzej chorzy ze względu na ciężki stan ogólny nie otrzymali leczenia cytostatycznego. W czasie całej

obserwacji zmarło 5 chorych, a całkowity czas przeżycia wynosił 1–126 miesięcy (średnio 24,9 miesiąca).

Wnioski: Zajęcie OUN w przebiegu PBL jest zjawiskiem rzadkim i zwykle nieoczekiwanym, co powoduje, że wiedza, jaką dysponujemy w chwili obecnej na ten temat, jest niewystarczająca. W każdym przypadku chorego na PBL z niewyjaśnionymi zaburzeniami neurologicznymi należy rozważyć zajęcie OUN w przebiegu choroby podstawowej i przeprowadzić diagnostykę radiologiczną oraz badanie PMR (cytologiczne, immunofenotypowe, cytogenetyczne). Może wystąpić na każdym etapie choroby zarówno jako jej pierwsza manifestacja, jak i po kilku latach leczenia.

P10. OCENA WARTOŚCI PROGNOSTYCZNEJ I PREDYKCYJNEJ WOLNYCH ŁAŃCUCHÓW LEKKICH U CHORYCH NA PRZEWLEKŁĄ BIAŁACZKĘ LIMFOCYTOWĄ

lek., mgr Agnieszka Szymczyk^{1,2},
dr n. med. Aleksandra Nowaczyńska²,
mgr Maciej Korpysz³,
prof. dr hab. n. med. Helena Donica³,
dr hab. n. med. Agnieszka Bojarska-Junak⁴,
mgr inż. Agata Szymańska¹,
dr n. med. Waldemar Tomczak^{2,5},
dr hab. n. med. Ewa Wąsik-Szczepanek²,
dr hab. n. med. Marek Hus²,
prof. dr hab. n. med. Iwona Hus¹

¹Samodzielna Pracownia Transplantologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Zakład Diagnostyki Biochemicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁴Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁵Katedra Interny z Zakładem Pielęgniarstwa Internistycznego, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Wolne łańcuchy lekkie (*free light chain* – FLC) κ i λ są wytwarzane podczas fizjologicznej limfopoety przez plazmocyty i limfocyty B w stałym stosunku do łańcuchów ciężkich. Ocena ich stężenia odgrywa aktualnie dużą rolę w procesie diagnostyczno-terapeutycznym dyskrazji plazmocytowych, w przypadku których obserwuje się nadmierne wytwarzanie FLC i zakłócenie stosunku κ/λ . Badania dotyczące zaburzeń syntezy tych cząsteczek w przebiegu innych chorób limfoproliferacyjnych są nieliczne, jednak pierwsze doniesienia dowodzą, że mogą one towarzyszyć przewlekłej białaczce limfocytowej (*chronic lymphocytic leukemia* – PBL).

Cel: Celem pracy była ocena zależności pomiędzy stężeniem FLC w surowicy chorych na PBL a uznany-

mi czynnikami prognostycznymi i pierwszorzędownymi punktami końcowymi.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiło 59 chorych ze świeżo rozpoznaną PBL w wieku 44–85 lat (śr. $64,6 \pm 9,5$ roku), w stadium zaawansowania klinicznego 0–IV wg klasyfikacji Raia i wsp. U wszystkich chorych oznaczono stężenie FLC w surowicy oraz określono uznane czynniki prognostyczne, takie jak ekspresja CD38, ZAP-70, stężenie β_2 -mikroglobuliny, aktywność LDH, liczba limfocytów krwi obwodowej. W celu oceny związku między stężeniem FLC oraz czasem do rozpoczęcia leczenia (TFT), czasem całkowitego przeżycia (OS), odsetkiem odpowiedzi na terapię (ORR) i czasem wolnym od progresji (PFS) chorych poddano dalszej prospektywnej obserwacji.

Wyniki i wnioski: Wykazano istotną zależność pomiędzy stężeniem FLC κ ($\rho = 0,42$, $p < 0,001$) a stadium zaawansowania klinicznego choroby według Raia, stężeniem β_2 -mikroglobuliny ($\rho = 0,54$, $p < 0,001$) i aktywnością LDH ($\rho = 0,27$, $p < 0,05$), a także poziomem FLC λ a stężeniem β_2 -mikroglobuliny ($\rho = 0,37$, $p < 0,01$). Grupa chorych CD38+ cechowała się istotnie wyższym stężeniem FLC κ niż grupa CD38– (śr. $91,59 \pm 74,25$ vs śr. $32,59 \pm 61,07$). Czas obserwacji wynosił od 8 do 129 miesięcy (śr. $72,1 \pm 25,2$ miesiąca), w trakcie trwania badania u 31 badanych stwierdzono progresję choroby i rozpoczęto leczenie przeciwnowotworowe (w tym u 12 chorych terapię opartą o chlorambucyl), 15 chorych zmarło. Nie stwierdzono zależności pomiędzy stężeniem FLC a ocenianymi punktami końcowymi (TFT, OS, ORR, PFS). Prosty i powtarzalny wskaźnik klonalności, jakim jest ocena stężenia FLC, stanowi bardzo atrakcyjny potencjalny marker prognostyczny u chorych na PBL, jednak zwłaszcza w odniesieniu do wartości predykcyjnej FLC konieczne są dalsze badania na większej grupie chorych.

P11. ANALIZA SKUTECZNOŚCI IBRUTYNIBU W PODGRUPIE CHORYCH NA PRZEWLEKŁĄ BIAŁACZKĘ LIMFOCYTOWĄ Z DELECJĄ 17P: BADANIE OBSERWACYJNE POLSKIEJ GRUPY DS. LECZENIA BIAŁACZEK U DOROSŁYCH (PALG)

dr Bartosz Puła¹, dr Elżbieta Iskierka-Jażdżewska², prof. Marek Hus³, dr Agnieszka Szymczyk³, dr Aleksandra Gołos¹, dr Magdalena Piotrowska⁴, dr Daria Zawirska⁴, prof. Jan Maciej Zaucha⁵, dr Paweł Steckiewicz⁶, dr Marcin Pasiarski⁶, dr Dominik Chraniuk⁷, dr Weronika Piszczek⁸, dr Marek Osowiecki⁹, dr Edyta Subocz¹⁰, dr Janusz Hałka¹⁰, dr Anna Waszczuk-Gajda¹¹, dr Joanna Drozd-Sokołowska¹¹, W. Knopińska-Postuszny¹², prof. Krzysztof Giannopoulos¹³, prof. Tadeusz Robak², prof. Krzysztof Warzocha¹, prof. Krzysztof Jamrozia¹

¹Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Klinika Hematologii, Wojewódzkie Wielospecjalistyczne Centrum Onkologii i Traumatologii im. M. Kopernika, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

³Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁴Oddział Kliniczny Hematologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

⁵Gdyńskie Centrum Onkologii – Szpital Morski im. PCK w Gdyni; Zakład Propedeutyki Onkologii, Uniwersytet Medyczny w Gdańsku; Oddział Onkologii i Radioterapii, Gdyńskie Centrum Onkologii

⁶Oddział Hematologiczny, Świętokrzyskie Centrum Onkologii w Kielcach

⁷Oddział Hematologii, Specjalistyczny Szpital Miejski im. Mikołaja Kopernika w Toruniu

⁸Klinika Hematologii, Szpital im. Kopernika w Toruniu

⁹Klinika Nowotworów Układu Chłonnego, Centrum Onkologii – Instytut w Warszawie

¹⁰Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie

¹¹Klinika Chorób Wewnętrznych, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

¹²Oddział Kliniczny Hematologii, SP ZOZ MSWiA, Warmińsko-Mazurskie Centrum Onkologii w Olsztynie

¹³Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Obecność delecji ramienia krótkiego chromosomu 17 (del 17p) uznawana jest za najbardziej niekorzystny czynnik rokowniczy u chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową (*chronic lymphocytic leukemia* – CLL). Wyniki ostatnio przeprowadzonych badań klinicznych sugerują, że ibrutynib istotnie poprawia rokowanie w tej grupie pacjentów. Jednak skuteczność i tolerancja leczenia pacjentów z CLL prowadzonego w ramach codziennej praktyki klinicznej może różnić się od tych obserwowanych w ramach badań klinicznych.

Cel: Celem pracy było określenie skuteczności oraz profilu działań niepożądanych ibrutynibu u chorych na CLL

z del 17p leczonych w ramach programu wczesnego dostępu do ibrutynibu i monitorowanych w ramach prospektywnego, wieloośrodkowego badania obserwacyjnego PALG.

Materiał i metody: W ramach badania zidentyfikowano 35 chorych z nawrotową i oporną CLL, u których stwierdzono delecję 17p. Chorzy otrzymali ibrutynib w monoterapii w początkowej dawce 420 mg. Mediana wieku w analizowanej grupie wynosiła 59 lat (zakres 44–82). Pacjenci do czasu włączenia ibrutynibu otrzymali od 1 do 7 linii leczenia (mediana 2).

Wyniki i wnioski: Odsetek odpowiedzi na terapię ibrutynibem wyniósł 80% (28/35 pacjentów) przy medianie obserwacji wynoszącej 24,2 miesiąca (zakres 0,1–30,9). Całkowitą remisję zaobserwowano u 5 pacjentów (14%), częściową remisję u 11 (31%), częściową remisję z limfocytozą u 13 (37%), natomiast stabilizację i progresję choroby odpowiednio u 4 (11%) i 1 (3%) chorego. Z uwagi na krótki czas leczenia odpowiedzi nie określono u 1 chorego. Mediana czasu przeżycia wolnego od progresji (*progression-free survival* – PFS) wynosiła 29,5 miesiąca, natomiast nie osiągnięto mediany całkowitego przeżycia (*overall survival* – OS). Estymowany odsetek chorych bez progresji oraz chorych żyjących po 12 miesiącach obserwacji wynosił 71%. Jedenastu chorych zmarło (7 chorych z powodu infekcji, 1 z powodu progresji CLL, 1 z powodu nagłej śmierci sercowej, 1 z powodu rozlanego raka gruczołu piersiowego, u 1 nie określono przyczyny zgonu). U 13 pacjentów (27%) wystąpiło przynajmniej jedno działanie niepożądane 3. lub 4. stopnia. U 11 chorych (31%) konieczne było wstrzymanie leczenia lub redukcja dawki leku. Ibrutynib charakteryzuje się wysoką skutecznością kliniczną i akceptowalną toksycznością w grupie chorych CLL z delecją 17p. Obserwacje z rutynowej praktyki klinicznej potwierdzają dotychczas zaprezentowane wyniki badań klinicznych.

P12. OCENA WPŁYWU EKSPRESJI KOMÓRKOWEJ WYBRANYCH MIKRORNA NA WRAŻLIWOŚĆ NA ANALOGI NUKLEOZYDÓW PURYNOWYCH U CHORYCH NA PRZEWLEKŁĄ BIAŁACZKĘ LIMFOCYTOWĄ

lek., mgr Agnieszka Szymczyk^{1,2},
dr n. med. Sylwia Chocholska²,
dr n. med. Arkadiusz Macheta²,
dr hab. n. med. Marek Hus²,
dr hab. n. med. Agnieszka Bojarska-Junak³,
dr hab. n. med. Monika Podhorecka²

¹Samodzielna Pracownia Transplantologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Pomimo postępu w terapii, jaki dokonał się w ciągu ostatnich lat, przewlekła białaczka limfocytowa (PBL) w większości przypadków jest chorobą nieuleczalną. Aktualny kierunek badań nad związkiem pomiędzy potranskrypcyjną regulacją ekspresji genów przez mikroRNA a procesami apoptozy komórek białaczkowych PBL i odpowiedzią na terapię opartą o analogi nukleozydów purynowych (PNA) może stać się podstawą do opracowania nowych strategii leczniczych.

Cel: Celem pracy była ocena wpływu ekspresji komórkowej miR-21, miR-34a, miR-181a, miR-199a/b oraz miR-221 na wrażliwość na chemioterapię opartą o PNA w warunkach *in vitro* i *in vivo*.

Materiał i metody: Badaniem objęto 40 chorych ze świeżo rozpoznaną PBL, w wieku 38–35 lat (Md 64 lata), w stadium zaawansowania klinicznego według Raia 0–IV, w tym 9 chorych leczonych fludarabiną. Oceny ilościowej poziomu ekspresji mikroRNA dokonano za pomocą techniki łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (qRQ-PCR). Procesy apoptozy indukowane fludarabiną i kladrybiną w warunkach 24-godzinnych hodowli komórkowych analizowano poprzez cytometryczną ocenę przyrostu odsetka komórek CD5+/CD19+ wykazujących aktywność kaspazy 3 (Cas3+). Uzyskane wyniki zestawiano z uznanymi czynnikami prognostycznymi oraz pierwszorzędownymi punktami końcowymi.

Wyniki: Przyrost odsetka apoptotycznych limfocytów CD5+/CD19+/Cas3+ indukowanego fludarabiną w warunkach *in vitro* wśród chorych cechujących się niską ekspresją miR-34a był istotnie niższy niż w grupie wykazującej wysoki poziom tej cząsteczki ($5,1 \pm 4,5$ vs $8,7 \pm 5,2$; $p = 0,037$). Różnice te stwierdzono także wśród chorych CD38(–) ($4,2 \pm 3,3$ vs $9,0 \pm 5,0$; $p = 0,032$) oraz zakwalifikowanych do grupy standardowego ryzyka cytogenetycznego ($4,1 \pm 3,0$ vs $9,2 \pm 4,3$; $p = 0,004$). Przyrost odsetka komórek CD19+/CD5+/Cas3+ w 24-godzinnych hodowlach komórkowych z kladrybiną w grupie pacjentów bez del11q i/lub del17p, z niską ekspresją miR-34a był również niższy ($3,5 \pm 3,0$ vs $7,2 \pm 5,1$; $p = 0,056$). Poziom ekspresji badanych mikroRNA różnił się pomiędzy chorymi, którzy uzyskali odpowiedź na terapię opartą o fludarabinę, oraz opornymi na leczenie, nie wykazano jednak istotności statystycznej.

Wnioski: Poziom ekspresji analizowanych mikroRNA może stanowić jeden z czynników warunkujących zahamowanie apoptozy komórek białaczkowych PBL indukowanej fludarabiną i kladrybiną, jednak konieczne są badania na większej grupie chorych.

OSTRE BIAŁACZKI SZPIKOWE**PRZEWODNICZĄCY: A. WIERZBOWSKA
(ŁÓDŹ), J. HOŁOWIECKI (GLIWICE)****Plakaty****P1. CHARAKTERYSTYKA
IMMUNOFENOTYPU MIELOBLASTÓW
W BIAŁACZKACH Z MUTACJĄ W GENIE NPM1****dr Jolanta Woźniak, mgr Hanna Makuch-Łasica,
dr Magdalena Wojtas**

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: AML z mutacją w genie NPM1 to odrębna jednostka w klasyfikacji WHO 2016. Jest najczęściej występującą aberracją u chorych z prawidłowym kariotypem (ok. 30% przypadków). Mutację tę stwierdzono we wszystkich podtypach AML wg klasyfikacji FAB, a także w CMML i MDS. W białaczkach z mutacją NPM1 odsetek mieloblastów często wynosi < 20%, linia mieloidalna wykazuje dysplazję, zwiększony jest odsetek monocytów. Z tego względu są często klasyfikowane jako MDS/MPD lub CMML. Znajomość charakterystycznego, wyróżniającego je immunofenotypu może być pomocna w diagnostyce tych białaczek, a określenie specyficznych fenotypów aberrantnych pozwoli na precyzyjne monitorowanie MRD.

Cel: Analiza charakterystycznych cech immunofenotypu mieloblastów w białaczkach NPM1+.

Materiał i metody: Materiałem do analizy były aspiraty szpiku 350 pacjentów z rozpoznaniem AML, CMML i MDS diagnozowanych w IHiT w latach 2008–2016. Badanie przeprowadzono metodą wielokolorowej cytometrii przepływowej z użyciem aparatu FACS Canto BD. Panel diagnostyczny zawierał następujące przeciwciała monoklonalne: CD13, CD14, CD15, CD31, CD33, CD34, CD64, CD117, CD123, HLA-DR. Obecność mutacji NPM1 oceniano w eksonie 12 metodą sekwencjonowania DNA w sekwencjonatorze Applied Biosystems.

Wyniki i wnioski: Wśród badanych przypadków u 72 pacjentów stwierdzono mieloblasty o wyróżniających cechach fenotypu: SSClowCD34-CD123+brightCD33+bright CD13+dimCD15-. U 67 chorych (93%) stwierdzono obecność mutacji NPM1. Pacjenci ci wykazywali prawidłowy kariotyp. Wg klasyfikacji WHO 2008 i FAB powyższe przypadki zaklasyfikowano jako AML M2 ($n = 16$), M4 (10), M5 (10), CMML (6) i MDS/MPD (5). Z badania wykluczono 20 chorych z fenotypem odpowiadającym AML M3 t(15;17)-ujemnych. Grupę porównawczą stanowiło 30 chorych NPM1- oraz 35 prawidłowych szpików. Analiza wykazała znamienne różnice w ilości komórek CD117+CD34- pomiędzy chorymi NPM1+ a chorymi NPM1- i normą odpowiednio 27% vs 10% vs 3%. Stwierdzono podwyższoną siłę ekspresji CD123 i HLA-DR u chorych NPM1+ w porówna-

niu z przypadkami NPM1- (MFI CD123: 2060 vs 455, MFI HLA-DR: 4160 vs 2500) oraz obniżoną siłę ekspresji CD15 (MFI 600 vs 24800). Mieloblasty chorych z mutacją NPM1 wykazują obniżoną ziarnistość oraz charakterystyczny wzór ekspresji antygenów CD123/HLA-DR i CD15/CD31. Analiza immunofenotypu mieloblastów z zastosowaniem odpowiednich zestawów przeciwciał pozwala z dużym prawdopodobieństwem wskazać przypadki z mutacją NPM1. Fenotyp ten jest specyficzny dla tej grupy chorych, co pozwala na poszukiwanie MRD z wysoką czułością.

**P2. OSTRA BIAŁACZKA SZPIKOWA DE
NOVO ZE WSPÓŁWYSTĘPOWANIEM
DWÓCH ABERRACJI
CHROMOSOMOWYCH T(9;22) I INV(16)****mgr inż. Anna Jaśkowiec, mgr Katarzyna Całka,
mgr Marta Iskierka, prof. dr hab. n. med. Olga Haus**Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi
i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we
Wrocławiu

Wstęp: Ostra białaczka szpikowa jest jednym z najczęściej występujących nowotworów hematologicznych u dorosłych. Wśród powtarzających się aberracji chromosomowych w AML znajduje się inv(16) (p13q22), najczęściej związana z podtypem morfologicznym M4Eo, w wyniku której dochodzi do powstania genu fuzyjnego CBFB MYH11. Obecność tej zmiany wiąże się z dobrym rokowaniem. Chromosom Ph, powstający w wyniku wzajemnej t(9;22), może być obecny w niewielkim procencie przypadków (1%) *de novo* AML u dorosłych. Obecność t(9;22) w AML kojarzy się głównie z podtypem M1 i M2, o rokowaniu niekorzystnym. Współwystępowanie w nowotworach hematologicznych t(9;22) i inv(16) należy do bardzo rzadkich zjawisk.

Cel: U 39-letniego mężczyzny z podejrzeniem *de novo* AML we wrześniu 2016 r. wykonano diagnostyczne badanie kariotypu komórek szpiku kostnego, w którym stwierdzono obecność inv(16)(p13q22) i t(9;22). Inwersja 16 występowała w każdej z 30 analizowanych metafaz. Translokacja t(9;22) była aberracją wtórną, obecną tylko w 67% metafaz. Obecność obu aberracji chromosomowych potwierdzona została badaniem FISH: fuzję CBFB MYH11 stwierdzono w 95 na 100 (95%), a fuzję BCR ABL i ABL-BCR w 55 na 100 (55%) analizowanych komórek interfazalnych. Oprócz wyżej wymienionych aberracji w kariotypie stwierdzono inwersję pericentryczną chromosomu 10, obecną we wszystkich 30 analizowanych komórkach, oraz trisomię chromosomu 21, obecną w dwóch komórkach metafazalnych (7%) i w 7 na 100 (7%) komórkach interfazalnych. W celu stwierdzenia, czy obecna u pacjenta inwersja pericen-

tryczna chromosomu 10 ma charakter wrodzony czy nabyty, wykonano badanie kariotypu konstytucyjnego, potwierdzając jej wrodzony charakter, bez znaczenia rokowniczego w AML. Obecność aberracji trzeciorzędowej, trisomii chromosomu 21, wraz z inv(16) i t(9;22), świadczyła o ewolucji kariotypu.

Materiał i metody: Obecność obu zmian, inv(16) i t(9;22), potwierdzono badaniem RT PCR, w którym stwierdzono obecność transkryptów genów fuzyjnych CBFB MYH11 oraz BCR ABL1 e1a2 (charakterystyczne dla ALL).

Wyniki i wnioski: Analiza obrazu choroby u badanego potwierdza wcześniejsze nieliczne doniesienia, z których wynika, że pacjenci z *de novo* AML ze współwystępowaniem t(9;22) i inv(16), traktowani jak AML z inv(16), rokoją lepiej niż pacjenci z CML Ph(+) w fazie blastycznej z inv(16). Z punktu widzenia rzadkiego łącznego występowania obu tych aberracji i konieczności podjęcia decyzji terapeutycznych wskazane są dalsze obserwacje i opisy takich pacjentów, aby potwierdzić dotychczasowe doniesienia.

P3. WSPÓŁWYSTĘPOWANIE DWÓCH NOWOTWORÓW UKŁADU KRWIOTWÓRCZEGO U CHOREGO Z AGRANULOCYTOZĄ

lek. Michał Górka¹, dr Joanna Drozd-Sokołowska¹,
lek. Piotr Kacprzyk¹, lek. Wojciech Sachs¹,
prof. Bogna Ziarkiewicz-Wróblewska²,
prof. Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek¹

¹Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Katedra i Zakład Patomorfologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Białaczka z dużych ziarnistych limfocytów jest nowotworem wywodzącym się z komórek T i stanowi mniej niż 5% wszystkich przewlekłych białaczek limfoidalnych. Występowanie klonu komórek T-LGL u chorych na ostre białaczki szpikowe wydaje się być ekstremalnie rzadkie. Dotychczas opublikowano jedynie pojedyncze opisy przypadków współwystępowania obu chorób.

Cel: Prezentacja przypadku klinicznego rozpoznania białaczki z dużych ziarnistych limfocytów T u chorej w remisji całkowitej ostrej białaczki szpikowej, u której ponownie stwierdzono agranulocytozę.

Materiał i metody: Retrospektywna analiza przypadku.

Wyniki i wnioski: Kobieta, 65 lat, została przyjęta do Kliniki w celu diagnostyki agranulocytozy (ANC 0,1 tys./ μ l). Na podstawie wykonanych badań rozpoznano ostrą białaczkę szpikową z mutacją NPM1 wg klasyfikacji WHO 2008. Zastosowano chemioterapię indukującą

remisję wg protokołu DA 3+7, nie uzyskując remisji choroby. Następnie podano chemioterapię wg protokołu DA+Etopozyd, uzyskując całkowitą remisję AML. Zastosowano jeden cykl chemioterapii konsolidującej remisję wg protokołu HDARaC. W trakcie wszystkich zastosowanych cykli chemioterapii obserwowano zagrożające życiu powikłania: inwazyjną aspergilozę, udar niedokrwieny OUN, krwawienie podpajęczynówkowe, i zdecydowano o dyskwalifikacji chorej z kontynuacji intensywnej chemioterapii. Wdrożono leczenie podtrzymujące azacytydyną. W badaniu morfologii krwi przed podaniem drugiego cyklu azacytydyny ponownie wystąpiła agranulocytoza (ANC 0,1 tys./ μ l). Wykluczono wznowę AML – w biopsji aspiracyjnej szpiku mieloblasty wynosiły 2,6%, w cytometrii przepływowej MRD wynosiła 0,3%; obecne były limfocyty T CD3+CD8+CD57+CD45RA+, mutacja NPM1 była nieobecna, w trepanobiopsji był podwyższony (ok. 20%) odsetek limfocytów T CD3+CD8+ mogący sugerować naciek T-LGL. Klonalność limfocytów T potwierdzono metodą multipleks PCR i analizą heteroduplexową – stwierdzono klonalną rearanżację łańcucha beta TCR. Wdrożono leczenie metotreksatem w dawce 10 mg/m² jeden raz w tygodniu, kontynuując jednocześnie leczenie azacytydyną. Uzyskano normalizację liczby granulocytów we krwi obwodowej, nie obserwując toksyczności hematologicznej leczenia. Opisany przypadek stanowi przykład niezwykle rzadkiego współwystępowania dwóch nowotworów układu krwiotwórczego u jednego pacjenta.

P4. BLUEBERRY MUFFIN SYNDROME JAKO WCZESNY OBJAW WRODZONEJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ – OPIS PRZYPADKU

lek. Bartosz Chyżyński¹,
dr hab. n. med. Paweł Łaguna¹,
dr n. med. Alicja Siwicka¹, dr n. med. Marzenna Król²,
prof. dr hab. n. med. Michał Matysiak¹

¹Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Oddział Kliniczny Neonatologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Ostre białaczki są najczęstszymi nowotworami wieku dziecięcego. Wśród nich ok. 20% stanowi ostra białaczka szpikowa (AML), która w Polsce jest rozpoznawana u ok. 10–15/100 000 dzieci rocznie. Liczba nowych zachorowań wykazuje tendencję wzrostową wraz z wiekiem. Wczesnym objawem wrodzonej białaczki szpikowej może być zespół *blueberry muffin*, charakteryzujący się obecnością podskórnych zasinień na ciele dziecka. Zespół ten jest również obecny w *neuroblastoma*, mięsakiach oraz we wrodzonych infekcjach. Przedstawiamy przypadek noworodka z AML, u którego wystąpił objaw *blueberry muffin*.

Materiał i metody: Noworodek płci żeńskiej został przyjęty na Oddział Neonatologii w 7. dobie życia z powodu zmian skórnych o charakterze *blueberry muffin* w celu dalszej diagnostyki. Przebieg ciąży i poród bez powikłań. Zmiany skórne obserwowano bezpośrednio po urodzeniu w postaci okrągłych podskórnych zasinień różnej wielkości zlokalizowanych głównie na tułowie i kończynach. Wykonane w tym czasie badania wirusologiczne oraz morfologia i rozmaz ręczny były prawidłowe. W USG jamy brzusznej poza przepukliną pępkową nie stwierdzono zmian. W RTG klatki piersiowej obraz był prawidłowy. W badaniu echokardiograficznym stwierdzono drożny otwór owalny do dalszej obserwacji. W badaniu okulistycznym bez nieprawidłowości. W 14. dobie życia wypisany do domu z zaleceniami zgłoszenia się na Oddział Hematologii i Onkologii w celu poszerzenia diagnostyki onkologicznej. Po 3 tygodniach rodzice zgłosili się na Oddział Hematologii, gdzie stwierdzono znaczne zmniejszenie się objawów skórnych. Morfologia z rozmazem ręcznym była prawidłowa. Po miesiącu podczas kolejnej wizyty stwierdzono stare pojedyncze dwie zmiany na głowie o charakterze zasinień. W morfologii obserwowano nieznaczny pancytopenię bez odchyłań w rozmazie ręcznym. Z uwagi na obraz kliniczny i pancytopenię wykonano biopsję szpiku, która wykazała nacieczenie komórkami blastycznymi w 58,2% utkania szpiku. Na podstawie mielogramu oraz immunofenotypu komórek rozpoznano ostrą białaczkę szpikową wg FAB M5. W badaniu cytogenetycznym stwierdzono nieprawidłowy kariotyp z ewolucją klonalną z obecną rearanżacją MLL.

Wyniki i wnioski: W każdym przypadku zmian o charakterze *blueberry muffin syndrome* obowiązuje wykluczenie choroby nowotworowej oraz objęcie dziecka nadzorem hematoonkologicznym.

Cel: Kobietę, 54 lata, przyjęto na oddział Kliniki Hematologii z podejrzeniem ostrej białaczki. Od 10 lat leczona była z powodu raka piersi, od 3 lat w całkowitej remisji po zastosowanym leczeniu. Po wykonaniu diagnostycznych badań stwierdzono u pacjentki AML M1 wg klasyfikacji WHO. Podjęto próbę leczenia pacjentki wg schematu DA „3+7”, leczenie indukcyjne przerwano z powodu pierwotnej oporności na leczenie i wdrożono leczenie paliatywne. Cztery miesiące od rozpoczęcia leczenia pacjentka zmarła.

Materiał i metody: W badaniu GTG 30 płytek metafazalnych stwierdzono kariotyp złożony z aberracjami strukturalnymi i widoczną ewolucją. W translokacje zaangażowane były chromosomy 11, 17 oraz 20. W każdej z metafaz obecne były dwa dicentryczne chromosomy pochodne: dic(11;17) oraz dic(11;20). W pierwszym z nich doszło do utraty genu TP53, w drugim stwierdzono obecność regionu barwiącego się homogenie (hsr), w jego strukturze materiał genetyczny obu chromosomów zlokalizowany był naprzemiennie, dodatkowo stwierdzono w nim amplifikację genu KMT2A, regionów subtelomerowych: 20pter, 11qter, oraz delecję genu ATM. W 26 metafazach stwierdzono obecność chromosomu pierścieniowego – r(5), w którym stwierdzono brak obu fragmentów subtelomerowych, genów hTERT, EGR1 oraz RPS14. Obecność opisanych aberracji potwierdzono za pomocą techniki FISH w ok. 90% komórek interfazalnych.

Wyniki i wnioski: Niestabilność chromosomowa, obecność kariotypu złożonego powstałego w wyniku chromotrypsji, amplifikacja genu KMT2A oraz delecje genów supresorowych należą do czynników złego rokowania. Amplifikacja genu KMT2A wiąże się ponadto z pierwotną opornością na leczenie. Opisany przypadek potwierdza dane literaturowe. Rzadko spotykanym zjawiskiem jest jednak utworzenie amplikonu obejmującego regiony subtelomerowe. U opisanej chorej amplifikację regionów subtelomerowych obu chromosomów biorących udział w translokacji stwierdzono tylko w jednym z dwóch chromosomów dicentrycznych.

P5. ZJAWISKO CHROMOTRYPSJI U PACJENTKI Z AML M1 – OPIS PRZYPADKU

mgr inż. Marta Szarawarska¹, dr n. med. Ewa Frączak¹,
prof. dr hab. n. med. Olga Haus^{1,2}

¹Katedra i Klinika Hematologii Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

²Katedra i Zakład Genetyki Klinicznej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum UMK, Bydgoszcz

Wstęp: Chromotrypsja jest słabo poznanym, złożonym procesem leżącym u podłoża rozwoju wielu nowotworów. Spotykana jest w ok. 2–3% z nich. W wyniku jednoczesnego zdarzenia dochodzi do zaburzenia organizacji materiału genetycznego w jądrze komórkowym. Wadliwie działające mechanizmy naprawcze doprowadzają do powstania anachromosomów, jako konsekwencji złożonych rearanżacji wewnątrzgenomowych – CGR's (complex genomic rearrangements).

P6. WYSTĘPOWANIE ORAZ ZNACZENIE EKSPRESJI I MUTACJI RECEPTORA C-KIT W OSTREJ BIAŁACZCE SZPIKOWEJ U DZIECI I MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA INHIBITORÓW KINAZY TYROZYNOWEJ TEGO RECEPTORA

dr n. med. Małgorzata Lasota,
prof. dr hab. Walentyna Balwierz

Klinika Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Instytut Pediatrii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

Wstęp: Znaczenie prognostyczne zmian biomolekularnych w komórkach blastycznych u chorych na ostre

białaczki szpikowe (AML) jest obecnie przedmiotem intensywnych badań. Mutacje aktywujące w obrębie genu kodującego receptor c-KIT mogą być ważnym czynnikiem sprawczym onkogenezy w AML. Dlatego receptor ten może być właściwym celem terapeutycznym, a jego inhibitory mogą przyczynić się do poprawy wyleczalności.

Cel: Celem pracy była ocena znaczenia ekspresji i mutacji receptora c-KIT w AML u dzieci oraz wpływu wybranych inhibitorów kinazy tyrozynowej tego receptora (imatinibu, nilotinibu, midostaurinu i dasatinibu) na komórki białaczkowe.

Materiał i metody: Ekspresję receptora c-KIT oraz innych antygenów charakterystycznych dla linii mieloidalnej oceniono metodą cytometrii przepływowej. W celu wykrycia aktywnych mutacji zsekwencjonowano ekson 8 i 17 genu kodującego receptor c-KIT. Przy pomocy barwienia błękitem trypanu i testem MTS oceniono proliferację komórek; metodą cytometrii przepływowej (FACS) z użyciem aneksyny V i jodkiem propidyny oraz mikroskopii fluorescencyjnej – przeżywalność komórek. Dopasowano także logistyczny model zależności efektu działania od dawki inhibitora i wyznaczono wartości połowicznej dawki cytostatycznej IC50. Określono również ich wpływ na ekspresję białek uczestniczących w transdukcji sygnału metodą ELISA.

Wyniki i wnioski: Rezultaty przeprowadzonych doświadczeń wykazały ekspresję receptora c-KIT na wszystkich badanych liniach komórkowych. W obrębie eksonu 17 wykryto mutację punktową w kodonie N822 w komórkach linii ostrej białaczki mieloblastycznej. Wykazano także, że badane inhibitory hamują proliferację komórek AML w sposób zależny od stężenia i czasu inkubacji. Barwienie różnicowe i analiza FACS pokazały, że badane inhibitory indukują głównie apoptozę komórek. Ponadto stwierdzono obniżenie stopnia ufosforylowania receptora c-KIT oraz kinaz Akt i Erk1/2 pod wpływem badanych związków. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono wyraźnie niższy poziom ekspresji receptora c-KIT na komórkach białaczkowych będących na dalszym etapie dojrzewania. Ponadto wykazano, że wrażliwość kinaz tyrozynowych na poszczególne związki zależy nie tylko od samego inhibitora, lecz także od typu wykrytej mutacji. Spośród badanych inhibitorów najsilniejszy efekt cytostatyczny i cytotoksyczny na komórki AML wywierał midostaurin i dasatinib. Związki te stanowią obiecujące substancje do zastosowania zarówno w terapii zaadoptowanej do czynników ryzyka, jak i farmakoterapii celowanej.

P7. KONSTYTUCYJNE MUTACJE GENU BRCA1 NIE SĄ ZWIĄZANE Z RYZYKIEM OSTREJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ

Aneta Bąk¹, Hanna Janiszewska¹,
Katarzyna Skonieczka¹, Anna Jaśkowiec²,
Marek Kielbiński², Anna Jachalska³,
Maria Czyżewska⁴, Bożena Jaźwiec⁵,
Stanisław Potoczek⁵, Jarosław Czyż³,
Kazimierz Kulickowski², Olga Haus¹

¹Katedra i Zakład Genetyki Klinicznej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Bydgoszcz, UMK, Toruń

²Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

³Klinika Hematologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Bydgoszcz, UMK, Toruń

⁴Oddział Hematologii, Specjalistyczny Szpital Miejski w Toruniu

⁵Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Wstęp: BRCA1 (17q21) jest genem supresji nowotworowej pełniącym kluczową rolę w regulacji cyklu komórkowego, naprawie DNA i regulacji apoptozy. Istotną funkcję pełni również w regulacji mitozy poprzez udział w prawidłowym formowaniu wrzecion kariokinetycznych i dokładnym przyłączaniu kinetochorów, a w konsekwencji w utrzymaniu stabilności chromosomów. Wydawało się zatem interesujące zbadanie związku konstytucyjnych mutacji genu BRCA1 z ryzykiem AML.

Cel: Znalezienie genów podatności na AML wśród genów odpowiedzi na uszkodzenia DNA może pomóc w pełnym zrozumieniu patogenezy choroby oraz ułatwić identyfikację osób z grupy zwiększonego ryzyka.

Materiał i metody: U 92 kolejnych chorych z *de novo* AML przed leczeniem analizowano sześć najczęstszych w polskiej populacji mutacji konstytucyjnych genu BRCA1: pięć skracających białko: c.5266dupC, c.4035delA, c.3756_3759delGTCT, c.3700_3704delGTAAA, c.3779delT, oraz jedną zmiany sensu: c.181T>G. Mediana wieku chorych w chwili diagnozy wynosiła 56 lat (18–87). Badania przeprowadzono w DNA z krwi obwodowej techniką AS- i RFLP-PCR oraz analizą sekwencyjną, a konstytucyjny charakter wykrytych zmian weryfikowano testem DNA z wymazów policzkowych. W chwili rozpoznania choroby oceniano również karyotyp komórek szpiku kostnego każdego pacjenta klasycznymi metodami cytogenetycznymi oraz fluorescencyjną hybrydyzacją *in situ* (FISH).

Wyniki i wnioski: W analizowanej grupie nie wykryto mutacji patogennych. U jednego chorego z AML rozpoznanym w 76. roku życia wykryto heterozygotyczny wariant BRCA1 c.3713C>T w eksonie 11 o łagodnym znaczeniu klinicznym. Wariant był obecny także w DNA z wymazu z policzka, co potwierdziło jego konstytucyjną naturę. Nieprawidłowy karyotyp stwierdzono u 47 (51%) chorych: u 19 – karyotyp złożony, w tym u pacjenta z wa-

riantem BRCA1, u 12 – aberrację liczbową, u 11 – translokację zrównoważoną, a u 5 – translokację niezrównoważoną. Uzyskane wyniki badań pokazują, że niestabilność chromosomowa w AML nie jest związana z wrodzonymi mutacjami BRCA1, co sugeruje, że mechanizm rozwoju AML jest niezależny od wrodzonej inaktywacji BRCA1. Dla porównania: wśród 96 pacjentek z rakiem piersi częstość badanych mutacji wynosi 7%.

P8. OPORNA NA LECZENIE OSTRA BIAŁACZKA SZPIKOWA Z EOZYNOFIŁIĄ I OBECNOŚCIĄ GENU FUZYJNEGO FIP1L1-PDGFR (+) U 27-LETNIEGO MĘŻCZYZNY – OPIS PRZYPADKU

Zofia Spyra¹, dr n. med. Ewa Bodzenta¹,
mgr Bożena Jaźwiec², mgr Krystyna Fajfer²,
Włodzimierz Mendrek³,
prof. dr hab. n. med. Olga Haus⁴,
Agnieszka Barchnicka⁵, Marcin Fejklowicz¹,
Aleksandra Melisz¹,
dr hab. n. med. Sebastian Grosicki⁵

¹Oddział Hematologiczny, SPZOZ ZSM w Chorzowie

²Pracownia Biologii Molekularnej, Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

³Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii, Centrum Onkologii – Instytut, Oddział w Gliwicach

⁴Katedra i Zakład Genetyki Klinicznej, Wydział Lekarski Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

⁵Studium Doktoranckie, Zakład Profilaktyki Chorób Nowotworowych, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Wstęp: Nowotwory układu krwiotwórczego przebiegające z eozynofilią i obecnością genu fuzyjnego FIP1L1-PDGFR stanowią rzadką grupę białaczek charakteryzujących się korzystnym rokowaniem dzięki wykorzystaniu imatinibu.

Cel: Celem pracy jest opis przypadku 27-letniego mężczyzny z ostrą białaczką szpikową (AML) z eozynofilią FIP1L1-PDGFR (+).

Materiał i metody: W grudniu 2013 r. chory został przyjęty na Oddział Hematologiczny z powodu leukocytozy WBC 113 G/l, niedokrwistości Hb 9,9 g/dl oraz małopłytkowości 31 G/l. W badaniu morfologicznym i immunofenotypowym krwi obwodowej stwierdzono 77% komórek mieloidalnych i 16% monoidalnych o nieprawidłowym fenotypie. Badanie cytogenetyczne ujawniło prawidłowy, męski kariotyp. Badaniem FISH nie stwierdzono aberracji chromosomowych. Diagnostyka molekularna nie wykazała translokacji CBFb-MYH11 i BCR/ABL oraz duplikacji FLT3-ITD. Choremu podano chemioterapię indukującą według schematu DAC, po którym uzyskano całkowitą remisję (CR) hematolo-

giczną. Wówczas zaobserwowano w mielogramie oraz rozmazie krwi obwodowej eozynofilię. W badaniu molekularnym z materiału w czasie, kiedy uzyskano CR, jak również z wyjściowego materiału szpikowego stwierdzono dodatni wynik fuzji FIP1L1-PDGFR (metodą RT-PCR). Podano chemioterapię konsolidującą HAM, a następnie włączono imatinib 400 mg/dobę, osiągając remisję choroby. Po 4 miesiącach odnotowano wznówę choroby i wdrożono cyto redukcję Ara-C oraz dasatinib 100 mg/dobę. Po 3 miesiącach z powodu cech progresji choroby rozpoczęto leczenie cytarabiną 100 mg i tioguaniną 2 x 40 mg bez efektu cyto redukcyjnego, następnie podano chemioterapię reindukującą według schematu CLAG-M. Uzyskano remisję hematologiczną z obecnością MRD w szpiku kostnym. Następnie wykonano URD-HSCT (brak dawcy rodzinnego) po kondycjonowaniu Etopozyd/TBI/ATG. Po 4 miesiącach od URD-HSCT stwierdzono ponowną wznówę choroby ze złożonym kariotypem oraz obecnością genu fuzyjnego FIP1L1-PDGFR. Zdecydowano o podaniu reindukcji według programu DAC z następowym, ratunkowym haplo-HSCT od brata. Mimo intensywnego leczenia wspomagającego chory zmarł z powodu infekcyjnych powikłań płucnych w okresie pancytopenii poterapeutycznej.

Wyniki i wnioski: Opisany przypadek chorego na AML z obecnością genu fuzyjnego FIP1L1-PDGFR okazał się oporny na intensywne leczenie oparte na chemioterapii, TKI oraz HSCT, co nie jest zbieżne z dotychczasowymi doniesieniami innych autorów.

P9. ZASTOSOWANIE AZACYTYDYN W LECZENIU OSTREJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ Z CECHAMI DYSPLAZJI I ZŁOŻONYM KARIOTYPEM POPRZEDZONEJ NADPŁYTKOWOŚCIĄ SAMOISTNĄ – OPIS PRZYPADKU

dr Magdalena Małek

Katedra i Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Nadpłytkowość samoistna jest nowotworem mieloproliferacyjnym o najbardziej korzystnym rokowaniu, biorąc pod uwagę całkowite przeżycie (OS) i częstość transformacji do ostrej białaczki szpikowej. Potencjalne działanie leukemogenne hydroksymocznika jest przedmiotem kontrowersji, ponieważ brakuje dużych badań prospektywnych dotyczących tego zagadnienia. Transformacja do ostrej białaczki szpikowej w przebiegu nadpłytkowości samoistnej wiąże się ze złym rokowaniem, częstym występowaniem złożonego kariotypu oraz kilkumiesięcznym przeżyciem.

Cel: Przedstawiamy opis przypadku 69-letniej chorej z wieloletnim wywiadem nadpłytkowości samoistnej, leczonej hydroksymocznikiem, w przebiegu której

wystąpiła ewolucja do pierwotnej mielofibrozy, a następnie transformacja do ostrej białaczki szpikowej z cechami dysplazji i złożonym kariotypem.

Materiał i metody: Zastosowanie azacytydyny u przedstawionej chorej pozwoliło uzyskać częściową remisję ostrej białaczki szpikowej i uniezależnienie od przetoczeń. Pacjentka nie wyraziła zgody na przeszczepienie allogenicznego krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT). Do chwili obecnej pacjentka otrzymała 7 cykli leczenia azacytydyną i pozostaje w dobrym stanie ogólnym. Czas od rozpoznania wtórnej ostrej białaczki szpikowej wynosi aktualnie 10 miesięcy.

Wyniki i wnioski: Azacytydyna może stanowić obiecującą opcję terapeutyczną w leczeniu wtórnej ostrej białaczki szpikowej poprzedzonej nadpłytkowością samoistną u starszych chorych, u których zastosowanie allo-HSCT nie jest możliwe.

P10. ANALIZA EKSPRESJI GENÓW BCL6, FOXO3A I BCOR W ODNIESIENIU DO PARAMETRÓW KLINICZNYCH DOROSŁYCH CHORYCH (< 60. ROKU ŻYCIA) NA OSTRĄ BIAŁACZKĘ SZPIKOWĄ BEZ ZMIAN W KARIOTYPIE

dr Marta Pawelczyk¹, Beata Piątkowska-Jakubas², Karolina Karabin¹, Marta Więsik¹, Katarzyna Borg³, Izabella Florek², Karolina Matiakowska⁴, Bożena Jaźwiec⁷, Iwona Solarska³, Magdalena Zawada², Sylwia Czekalska², Małgorzata Jakóbczyk², Monika Paluszewska¹, Małgorzata Całbecka⁵, Justyna Gajkowska-Kulik⁵, Grażyna Semeńczuk⁶, Marek Kiełbiński⁷, Anna Ejduk³, Sebastian Grosicki⁸, Agnieszka Wierzbowska⁹, Tadeusz Robak⁹, Krzysztof Warzocha³, Kazimierz Kuliczowski⁷, Bartosz Kaczyński¹, Aleksander Skotnicki², Przemysław Juszczynski³, Jerzy Hołowiecki¹⁰, Olga Haus^{4,7}, Wiesław Wiktor Jędrzejczak¹, Marta Libura¹

¹Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

³Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁴Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, *Collegium Medicum* w Bydgoszczy

⁵Specjalistyczny Szpital Miejski im. Mikołaja Kopernika w Toruniu

⁶Szpital Uniwersytecki nr 2 im. dr Jana Biziela w Bydgoszczy

⁷Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

⁸Szpital Specjalistyczny w Chorzowie

⁹Uniwersytet Medyczny w Łodzi

¹⁰Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Gliwice

Wstęp: Białko BCL6 (*B-cell lymphoma 6*) pełni funkcję represora transkrypcji genów kodujących białka zaangażowane w regulację cyklu komórkowego oraz detekcję i naprawę uszkodzeń DNA. W ostatnich latach

pojawiały się prace badawcze wskazujące na potencjalną rolę genu BCL6 w rozwoju nowotworów wywodzących się z mieloidalnej linii krwiotworzenia. Między innymi w grupie chorych na ostrą białaczkę szpikową bez zmian w kariotypie (NK-OBSz) zidentyfikowano aberracje genów funkcjonalnie związanych z białkiem BCL6: mutacje genu BCOR (*B-cell lymphoma 6 corepressor*) oraz nadekspresję genu FOXO3A (*Forkhead Box O3A*), który reguluje transkrypcję BCL6.

Cel: Celem pracy była analiza i ocena znaczenia prognostycznego ekspresji genu BCL6 oraz analiza ekspresji powiązanych z nim funkcjonalnie genów: BCOR i FOXO3A w grupie NK-OBSz.

Materiał i metody: Materiałem do badań był szpik kostny pobrany od 122 dorosłych chorych poniżej 60. roku życia z nowo zdiagnozowaną NK-OBSz. Poziom ekspresji genów BCL6, BCOR i FOXO3A oznaczono metodą PCR z detekcją w czasie rzeczywistym, z zastosowaniem sond typu TaqMan.

Wyniki: We wszystkich włączonych do badania próbkach szpiku zidentyfikowano ekspresję genów BCL6, BCOR i FOXO3A względem ekspresji genu referencyjnego ABL. U chorych z podtypem OBSz M5 wykazano istotnie wyższy poziom ekspresji genów BCL6 ($p = 0,003$) oraz BCOR ($p = 0,02$). Analiza Kaplana-Meiera wykazała znamienne większe prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od choroby (DFS) u pacjentów z wysoką ekspresją genu BCL6 ($p = 0,025$). W analizie wielowariantowej z wykorzystaniem modelu proporcjonalnego hazardu Coxa wykazano, że wysoki poziom ekspresji genu BCL6 jest niezależnym czynnikiem prognostycznym istotnie krótszego DFS chorych z grupy NK-OBSz ($p = 0,01$). Nie wykazano znaczenia prognostycznego poziomu ekspresji genów FOXO3A i BCOR w badanej grupie chorych.

Wnioski: Silna ekspresja genów BCL6 i BCOR w podtypie M5 OBSz może świadczyć o zaangażowaniu tych białek w proces różnicowania komórek linii monocytowej. Wysoki poziom ekspresji genu BCL6 jest nowo zidentyfikowanym, niekorzystnym markerem prognostycznym w populacji NK-OBSz.

P11. ZWIĄZEK MUTACJI W GENACH NPM1 I CEBPA Z DŁUGOŚCIĄ CZASU PRZEŻYCIA CHORYCH Z OSTRĄ BIAŁACZKĄ MIELOBLASTYCZNĄ (AML) O PRAWIDŁOWYM KARIOTYPIE

mgr Karolina Matiakowska,
mgr Alicja Bartoszevska-Kubiak,
mgr Ewelina Bielińska,
mgr Małgorzata Morgut-Klimkowska,
dr Katarzyna Skonieczka, prof. dr hab. n. med. Olga Haus

Katedra i Zakład Genetyki Klinicznej, Wydział Lekarski w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika

Wstęp: Ostre białaczki szpikowe (AML) są heterogenną pod względem molekularnym grupą nowotworów. Rozwój AML jest związany z zaburzeniami różnicowania i proliferacji komórek. Najczęściej występującą mutacją u chorych z rozpoznaniem AML z prawidłowym kariotypem (AML NK) są zmiany w genie nukleofosminy, NPM1. Nukleofosmina odgrywa kluczową rolę w kontroli cyklu komórkowego i apoptozy. Mutacje w genie NPM1 (insercje lub delecje) występują u ok. 60% pacjentów z AML NK. Mają one korzystne znaczenie rokownicze. Kolejnymi zmianami kwalifikującymi pacjentów do grupy dobrego rokowania są mutacje w genie CEBPA. Gen ten koduje dwa białka, o masie 30k Da i 42 kDa, które w formie homo- lub heterodimeru wykazują aktywność czynnika transkrypcyjnego, regulując różnicowanie komórek w przebiegu granulocytopoezy. Mutacje genu CEBPA to głównie insercje i delecje, rzadziej mutacje punktowe. Mają one korzystne znaczenie rokownicze, głównie jako mutacje bialleliczne (N-końca w jednym allelu genu i C-końca w drugim). W AML spotyka się również dużo polimorfizmów CEBPA. Ich znaczenie kliniczne nie zostało dotychczas zbadane.

Cel: Celem pracy było porównanie wpływu mutacji genów NPM i CEBPA na długość czasu przeżycia (OS) chorych z AML o kariotypie prawidłowym.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiło 76 dorosłych z rozpoznaniem AML NK. Materiałem do badań był DNA wyizolowany ze szpiku bądź krwi chorych. Zmiany na poziomie nukleotydów wykryto poprzez sekwencjonowanie. Uzyskane wyniki przeanalizowano statystycznie w celu określenia prawdopodobieństwa przeżycia chorych.

Wyniki i wnioski: Mutacje w genie NPM1 (NPM1-mut) wykryto u 29 chorych, mutacje w genie CEBPA (CEBPAmut) u 25. Do grupy CEBPAmut zakwalifikowano pacjentów, u których wykryto jakiejkolwiek zmiany w DNA, wliczając polimorfizmy.

P12. OSTRA BIAŁACZKA SZPIKOWA WTÓRNA DO ZESPOŁU MIELODYSPLASTYCZNEGO Z T(2;3)(P2?2;Q26.2) I CHROMOSOMEM PH – OPIS PRZYPADKU

dr n. med. Ewa Wasilewska¹,
lek. Małgorzata Bernatowicz¹,
dr hab. Barbara Panasiuk², dr n. med. Michał Gniot³,
dr n. med. Radosław Charkiewicz⁴,
mgr Anna Sawicka², mgr Katarzyna Kozłowska¹,
prof. Krzysztof Lewandowski³, prof. Jacek Nikliński⁴,
prof. Janusz Kłoczko¹, mgr Joanna Czerwińska-Rybak⁵,
mgr Anna Przybyłowicz-Chałęcka⁵

¹Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

²Zakład Genetyki Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

³Pracownia Biologii Molekularnej Katedry i Kliniki Hematologii i Chorób Rozrostowych Układu Krwiotwórczego, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

⁴Zakład Klinicznej Biologii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

⁵Pracownia Cytogenetyki, Laboratorium Diagnostyki Hematologicznej, Szpital Kliniczny Przemienienia Pańskiego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Wstęp: W ostrej białaczce szpikowej (AML) chromosom Ph stwierdza się bardzo rzadko i na ogół jako zmianę pierwotną. Dopiero w 2016 r. klasyfikacja WHO wyróżniła odrębną jednostkę chorobową: ostrą białaczkę szpikową Ph-dodatnią, różnicując ją z kryzą blastyczną przewlekłej białaczki szpikowej (CML). Chromosom Ph jako zmiana wtórna pojawiająca się w przebiegu AML jest niezwykle rzadkim zjawiskiem.

Cel: Prezentujemy pacjenta, u którego chromosom Ph pojawił się w trakcie leczenia AML poprzedzonej zespołem mielodysplastycznym (MDS).

Materiał i metody: Materiał do badań stanowiły próbki szpiku i krwi obwodowej pochodzące od 56-letniego mężczyzny, który zgłosił się do Kliniki Hematologii w 2014 r. z powodu neutropenii i niedokrwistości.

Wyniki i wnioski: U chorego rozpoznano MDS RAEB2, a po trzech miesiącach progresję choroby zasadniczej do AML. W badaniu cytogenetycznym stwierdzono t(2;3)(p2?2;q26.2). Chory otrzymał leczenie indukujące remisję wg schematu DAC < 60. roku życia, konsolidację oraz 1 cykl podtrzymujący. Po kolejnych trzech miesiącach nastąpiła wznova ostrej białaczki. Zastosowano chemioterapię CLAM-NR. W badaniu cytogenetycznym oprócz t(2;3) stwierdzono chromosom Ph, a w kolejnych badaniach dodatkowo wystąpiła trisomia chromosomu 8 i dodatkowa kopia Ph. Badaniem molekularnym potwierdzono fuzję BCR-ABL (transkrypt 22,34%). Chory otrzymał imatinib, następnie dasatinib w dawce 140 mg, z częściową odpowiedzią hematologiczną. W czerwcu 2016 r. chorego poddano procedurze Allo-URD PBSCT w fazie NR, reindukcji ICE w sierpniu 2016 r. – NR. Miesiąc później ponownie włączono dasatinib

w dawce 140 mg z przejściową odpowiedzią hematologiczną. Od października 2016 r. do chwili obecnej chory leczony jest ponatynibem. W marcu oraz kwietniu 2017 r. zastosowano procedurę DLI. W dwóch ostatnich badaniach kariotypu oprócz t(2;3) i chromosomu Ph dodatkowo obserwowano translokację t(7;7)(p21;q31) z jednoczesną śródramienną delecją del(7)(p15p13) na jednym z pochodnych chromosomu 7. Technika FISH (sondy: Wcp2, Wcp3; EVI1 (MECOM), MYNN, 3q26.2, breakapart) potwierdziła obecność t(2;3) z rozdzieleniem sygnałów odpowiadających genom EVI1 (MECOM) i MYNN. Chory pozostaje w stanie ogólnym dobrym z częściową odpowiedzią hematologiczną.

Wnioski: Monitorowanie cytogenetyczne w przebiegu chorób mieloproliferacyjnych pozwala na wykrycie różnych nietypowych zmian, co wpływa na wybór odpowiedniego leczenia i poprawia rokowanie chorych.

P13. WALIDACJA ROKOWANIA 444 POLSKICH CHORYCH Z NK-OBSZ W PODGRUPACH GENETYCZNYCH WG NAJNOWSZEJ KLASYFIKACJI ELN 2017. DALSZA STRATYFIKACJA RYZYKA CHORYCH W OPARCIU O DODATKOWE MARKERY: EKSPRESJĘ GENÓW BAALC, ERG ORAZ MN1

dr Marta Libura¹, dr Beata Piątkowska-Jakubas², prof. Agnieszka Wierzbowska³, dr Marta Pawełczyk¹, prof. Sebastian Giebel⁴, dr Patryk Górniak⁵, dr Katarzyna Borg⁵, dr Izabella Florek², dr Karolina Matiakowska⁶, dr Bożena Jaźwiec⁷, dr Iwona Solarska⁵, dr Magdalena Zawada², dr Sylwia Czekalska², dr Małgorzata Jakóbczyk², dr Karolina Karabin¹, mgr Elżbieta Chmarzyńska⁸, dr Monika Paluszewska⁸, dr Małgorzata Całbecka⁹, dr Justyna Gajkowska-Kulik⁹, dr Grażyna Semeńczuk¹⁰, dr Justyna Rybka⁷, dr Anna Ejduk⁵, dr hab. n. med. Dariusz Kata¹¹, prof. Sebastian Grosicki¹², prof. Tadeusz Robak³, prof. Sławomira Kyrz-Krzemien¹¹, prof. Krzysztof Warzocha⁵, prof. Kazimierz Kuliczowski⁷, prof. Aleksander Skotnicki², prof. Jerzy Hołowiecki⁴, prof. Przemysław Juszczynski⁵, prof. Wiesław Wiktor Jędrzejczak¹, Marta Więsik¹, prof. Olga Haus^{6,7}

¹Samodzielny Publiczny Centralny Szpital Kliniczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

³Uniwersytet Medyczny w Łodzi

⁴Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

⁵Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁶Wydział Lekarski, Collegium Medicum w Bydgoszczy

⁷Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

⁸Warszawski Uniwersytet Medyczny w Warszawie

⁹Miejski Szpital im. Mikołaja Kopernika w Toruniu

¹⁰Szpital Uniwersytecki im. dr. Biziela w Bydgoszczy

¹¹Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

¹²Zespół Szpitali Miejskich w Chorzowie

Wstęp: Według najnowszej aktualizacji klasyfikacji *European Leukemia Net* (ELN) 2017 rokowanie chorych z ostrą białaczką szpikową bez zmian w kariotypie (NK-OBSz) jest ustalane w głównej mierze w oparciu o obecność duplikacji FLT3 (FLT3-ITD) oraz mutacji NPM1. Z punktu widzenia praktyki klinicznej najmniej zdefiniowaną prognostycznie populacją są chorzy o genotypie NPM1-/FLT3-ITD, którzy po wyłączeniu grupy z podwójną mutacją CEBPA (korzystne rokowanie) tworzą w ramach klasyfikacji ELN podgrupę o pośrednim rokowaniu (INTERMEDIATE).

Cel: Celem pracy była walidacja znaczenia rokowniczego podgrup genetycznych wg klasyfikacji ELN w populacji 444 polskich chorych z NK-OBSz wraz z oceną znaczenia rokowniczego dodatkowych markerów ekspresji genów BAALC, ERG oraz MN1 w całości grupy NK-OBSz oraz w podgrupie NPM1-/FLT3-ITD/dmCEBPA-.

Materiał i metody: 444 pacjentów z NK-OBSz było leczonych w ramach badania klinicznego lub wg tego samego protokołu poza prospektywnym badaniem: 216 pacjentów wg DA (daunorubicyna + cytarabina), 204 wg DAC (DA + 2CdA) oraz 24 wg DAF (DA + fludarabina). Mutacje genetyczne (badanie dla grupy 444 pacjentów) oraz markery ekspresji (badanie dla grupy 191 pacjentów) były oznaczone retrospektywnie za pomocą PCR oraz PCR w czasie rzeczywistym.

Wyniki: W analizie jednowariantowej podwójna mutacja CEBPA była związana z dłuższym czasem przeżycia całkowitego (OS; $p = 0,00046$), podczas gdy duplikacja FLT3 z krótszym czasem OS w całości grupy NK-OBSz (odpowiednio: $p = 0,00152$ i $p = 0,00557$ dla podgrup z i bez mutacji NPM1). W analizie wielowariantowej z wykorzystaniem modelu proporcjonalnego hazardu Coxa wykazano, że wysoki poziom ekspresji genu MN1 był niezależnym czynnikiem prognostycznym związanym z krótszym czasem przeżycia wolnego od choroby (DFS; $p = 0,014$) dla całości grupy NK-OBSz. Natomiast gdy analizę przeprowadzono w grupie NPM1-/FLT3-ITD/dmCEBPA-, ekspresja BAALC okazała się niezależnym czynnikiem prognostycznym związanym z krótszym OS ($p = 0,04$), podczas gdy ekspresja ERG niezależnym czynnikiem prognostycznym związanym z krótszym DFS ($p = 0,03$).

Wnioski: W populacji 444 polskich chorych potwierdza się znaczenie rokownicze podgrup genetycznych wg ELN 2017 w oparciu o oznaczenie genotypu FLT3/NPM1/CEBPA. Wśród badanych genów jedynie wysoki poziom ekspresji MN1 okazał się być niekorzystnym markerem prognostycznym w całości populacji NK-OBSz, podczas gdy wysoka ekspresja genu BAALC oraz ERG wydaje się markerem niekorzystnego przebiegu choroby w podgrupie NPM1-/FLT3-ITD/dmCEBPA-NK-OBSz.

P14. CLINICAL AND BIOLOGICAL ROLE OF ACCUMULATION OF THE NPM-1 SPLICE VARIANT R2 IN AML, MDS AND SAML

dr Małgorzata Zając¹, Grażyna Stasiak¹, Joanna Zaleska¹, Michał Kiełbus², Jakub Czapieński², Andrzej Stepulak², Olga Jankowska-Łęcka³, Tomasz Gromek³, Norbert Grząsko⁴, Maria Soroka-Wojtaszko⁵, Aneta Szudy-Szczyrek⁵, Bożena Sokołowska⁵, Marek Hus⁵, Lars Bullinger⁶, Krzysztof Giannopoulos⁵

¹Department of Experimental Hematooncology, Medical University of Lublin

²Chair and Department of Biochemistry and Molecular Biology, Medical University of Lublin

³Department of Hematooncology and Bone Marrow Transplantation Unit, Medical University of Lublin

⁴Department of Hematology, St. John's Cancer Center

⁵Department of Hematooncology and Bone Marrow Transplantation Unit, Medical University of Lublin

⁶Department of Internal Medicine III, University of Ulm, Germany

Introduction: Acute myeloid leukemia (AML) is a heterogeneous group of myeloid malignancies. Clinical and biological studies indicate that myelodysplastic syndromes (MDS) and AML could be considered as part of the same disease. NPM1 is a multifunctional protein which interacts with cellular proteins, including ARF and p53. Recently, we found that high expression of the NPM1 splice variant R2, which encodes truncated form of NPM1, may provide prognostic value for CN-AML patients.

Aim: Our aim was evaluation of R2 significance for MDS and sAML cases, and assignment if different expression of R2 might have influence on the expression of the ARF-MDM2-p53-p21 signaling pathway and miR-34a, miR-34b and miR-34c molecules. To determine the impact of R2 on NPM1 localization transfection analyses were performed.

Material and methods: R2, CDKN2A (encoding ARF), MDM2, TP53 and CDKN1A (encoding p21) expression were assessed for 128 samples (58 AML, 62 MDS and 8 sAML) using qRT-PCR. Expression of miR-34a, miR-34b and miR-34c was measured in CD33+ cells from 37 AML patients. WI-38 fibroblasts and HEK-293 cells were transfected with constructs containing eGFP-tagged NPM1-R2, NPM1-mut and NPM1-wt under a cytomegalovirus promoter, stained and visualized with confocal microscope.

Results and conclusions: R2 expression levels were higher in AML, sAML and MDS groups compared to HVs. Expression of TP53 was elevated in groups with high R2 expression compared to groups with low R2 expression in AML and MDS patients. We found strong positive correlation of R2 with TP53 expression in AML and MDS. We observed elevated expression of miR-34c in HVs compared to AML and trend to decreased expression of miR-34a in AML compared to HVs. Transfection analyses showed that NPM1-wt localized mainly

in nucleoli, NPM1-R2 was detected in the nucleoplasm and nucleoli, whereas eGFP-NPM1-mut displayed cytoplasmic localization. The elevated level of R2 splice variant in AML, sAML and MDS groups vs HVs suggests that R2 might play role in neoplasia process also in early stages of this malignancy. Transfection analyses established that R2 mostly localizes in the nucleoplasm, where it might interact with other proteins. Strong positive correlation between R2 and TP53 expression was found in AML and MDS groups suggesting biological link between these transcripts. The expression of R2 might be of biological importance for AML as well as for transformation of MDS into sAML.

This work was supported by National Centre for Science Grant HARMONIA (UMO-2013/10/M/NZ5/00313).

P15. ZNACZENIE STĘŻENIA BIAŁEK SZOKU CIEPLNEGO HSP-70 I HSP-90 ORAZ KINAZ SZOKU CIEPLNEGO HSK-1 I HSK-2 DLA ZAAWANSOWANIA ORAZ WYNIKÓW LECZENIA CHORYCH NA NOWOTWORY HEMATOLOGICZNE. PROSPEKTYWNE BADANIE JEDNOOŚRODKOWE – DONIESIENIE WSTĘPNE

dr hab. Sebastian Grosicki¹, lek. Agnieszka Barchnicka², dr n. med. Małgorzata Olejniczak-Nowakowska¹, dr n. med. Karolina Krupa-Kotara¹, dr n. med. Ewa Bodzenta³, lek. Marcin Fejkiłowicz³, lek. Aleksandra Melisz³, lek. Maja Twardosz³, lek. Ilona Szypuła-Perkosz³, lek. Zofia Spyra³, lek. Marek Kriegler³, lek. Piotr Małeck³, mgr Magdalena Lizura⁴, mgr Katarzyna Smolarz⁴, Piotr Gregorczyk⁵, mgr Grażyna Kmiecik⁴

¹Zakład Profilaktyki Nowotworowej, Wydział Zdrowia Publicznego, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

²Studium Doktoranckie, Zakład Profilaktyki Chorób Nowotworowych, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

³Oddział Hematologiczny, SPZOZ ZSM w Chorzowie

⁴Laboratorium Analityczne, SPZOZ ZSM w Chorzowie

⁵Koło Studenckie przy Zakładzie Profilaktyki Nowotworowej, Wydział Zdrowia Publicznego, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Wstęp: Białka szoku cieplnego (HSP) należą do rodziny białek opiekuńczych, tzw. molekularnych czapekronów. Wykazano, że poziom ekspresji tych białek jest podwyższony u pacjentów w przypadku wielu nowotworów. W ostatnich latach wykazano, że białka tego typu uczestniczą także w odpowiedzi układu immunologicznego skierowanej przeciwko patogenom i nowotworom. Obserwacje te próbuje się wykorzystać do

wprowadzania nowych metod terapii chorób infekcyjnych oraz w immunoterapii nowotworów.

Cel: Celem pracy jest zbadanie korelacji stężenia HSP-70 i HSP-90 oraz czynników transkrypcyjnych dla HSP (HSF1 i HSF2) u chorych na szpiczaka plazmocytoowego (MM), przewlekłą białaczkę limfocytową (CLL), ostrą białaczkę szpikową (AML) ze wskaźnikami zaawansowania i wynikami leczenia.

Materiał i metody: Planuje się włączyć do badania po 30 chorych na nieleczony MM, AML oraz CLL. Materiałem badawczym są próbki krwi obwodowej pobierane przed rozpoczęciem chemioterapii, a następnie w czasie oceny efektu leczenia. Oznaczenia stężeń białek szoku cieplnego są wykonywane metodą immunoenzymatyczną ELISA.

Wyniki: Do badania włączono 58 pacjentów, w tym 30 mężczyzn (52%) oraz 28 kobiet (48%); mediana wieku 67 lat (26–83); u 38 chorych rozpoznano MM, u 11 CLL, a u 9 AML. Średnie stężenie HSP-70 przed leczeniem wyniosło 8,84 ng/ml (1,56–45,54), a po leczeniu 8,68 ng/ml (4,68–19,25); HSF1 przed leczeniem 0,119 ng/ml (0,007–1,359), a po leczeniu 0,058 ng/ml (0,016–0,126), HSF2 przed leczeniem 0,8 ng/ml (0,062–7,68), a po leczeniu HSF2 0,358 ng/ml (0,134–1,326). Badanie jest w toku. Korelacje z wynikami i zaawansowaniem choroby zostaną przedstawione w czasie prezentacji na konferencji PTHiT.

Wnioski: Określenie znaczenia aktywności białek szoku termicznego, ich czynników transkrypcyjnych dla zaawansowania chorób onkohematologicznych oraz ich wyników leczenia wymaga dalszych badań. Jest to szczególnie ważne wobec badań klinicznych nad miejscem inhibitorów HSP w ich terapii.

P16. OCENA WARTOŚCI PROGNOSTYCZNEJ WYNIKÓW BADAŃ CHIMERYZMU METODĄ STR-PCR U CHORYCH PO ALLOTRANSPLANTACJI KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH Z POWODU NOWOTWORÓW MIELOIDALNYCH – ANALIZA JEDNOOŚRODKOWA

dr Ewa Karakulska-Prystupiuł¹, dr Marta Więsik²,
dr Anna Waszczuk-Gajda¹, dr Joanna Drozd-Sokołowska¹,
dr Anna Młynarczewska¹, dr Marta Libura²,
dr Piotr Boguradzki¹, dr hab. Grzegorz Basak¹,
prof. dr hab. Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek¹,
prof. dr hab. Wiesław Wiktor Jędrzejczak¹

¹Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, SP CSK w Warszawie

²Pracownia Badań Molekularnych, Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, SP CSK w Warszawie

³Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Wrocław

Wstęp: Allotransplantacja komórek krwiotwórczych jest podstawową metodą leczenia nowotworów mieloidalnych. Główną przyczyną śmiertelności po allo-HCT jest nawrót choroby podstawowej albo choroba przeszczep przeciw gospodarzowi (GvHD). Badanie chimeryzmu ułatwia monitorowanie funkcji przeszczepu po transplantacji, ale jego kliniczna przydatność w ocenie ryzyka nawrotu i GvHD pozostaje niejednoznaczna.

Cel: Porównanie wartości prognostycznej wyników badań chimeryzmu wykonanych w 100. dniu po allo-HCT u chorych na nowotwory mieloidalne, w odniesieniu do przeżycia całkowitego i przeżycia wolnego od GvHD.

Materiał i metody: Analizowano retrospektywnie 54 chorych na nowotwory mieloidalne (AML – 46, CMML – 2, MDS – 6) po allo-HCT, od dawcy niespokrewnionego – 43 lub rodzinnego – 11, po kondycjonowaniu MAC – 39 lub RIC – 15, u których w dobie +100. po allo-HCT uzyskano wyniki badania chimeryzmu. Analizę chimeryzmu metodą STR-PCR wykonywano w populacji komórek szpiku lub subpopulacji limfocytów CD3(+) krwi obwodowej. Oceny całkowitego przeżycia i przeżycia wolnego od choroby GvH (łącznie postaci ostrej i przewlekłej) dokonano w dwóch różnych wariantach definiujących chimeryzm pełny: 99% lub 95%.

Wyniki: Wyniki badań chimeryzmu CD3(+) w dobie 100. po allo-HCT uzyskano łącznie u 26 chorych: 18 chorych uzyskało chimeryzm $\geq 95\%$, 8 $< 95\%$. 11 chorych uzyskało chimeryzm $\geq 99\%$, 15 $< 99\%$. Wyniki badań chimeryzmu szpiku uzyskano u 36 chorych. 32 chorych uzyskało chimeryzm $\geq 95\%$, 4 $< 95\%$; 21 $\geq 99\%$, 15 $< 99\%$. 2-letnie przeżycie całkowite (2-y OS) u chorych z chimeryzmem CD3(+) zarówno $< 95\%$, jak i $\geq 95\%$ było istotnie krótsze niż w grupie z chimeryzmem $\geq 95\%$ i $\geq 99\%$ – odpowiednio 22% vs 100% ($p < 0,001$) i 58,3% vs 100% ($p = 0,0273$). 2-y OS u chorych z chimeryzmem szpiku $< 95\%$ było istotnie krótsze niż w grupie $\geq 95\%$ (37,5% vs 95%; $p = 0,018$), a u chorych z chimeryzmem szpiku $< 99\%$ nie różniło się istotnie od grupy $\geq 99\%$ (84% vs 94%; $p = 0,3992$). Nie wykazano istotnego wpływu wyniku badania chimeryzmu na przeżycie wolne od GvHD (GvHD-FS). 2-letnie GvHD-FS wyniosło odpowiednio: w grupie z chimeryzmem CD3(+): $< 95\%$ – 17%, $\geq 95\%$ – 56%, $< 99\%$ – 26%, $\geq 99\%$ – 73% ($p > 0,05$). 2-letnie GvHD-FS w grupie z chimeryzmem szpiku: $< 95\%$ – 25%, $\geq 95\%$ – 43%, $< 99\%$ – 27%, $\geq 99\%$ – 50% ($p > 0,05$).

Wnioski: Badanie chimeryzmu u pacjentów po allo-HCT u chorych na nowotwory mieloidalne może mieć znaczenie rokownicze. Określenie istotnej rokowniczo wartości definiującej chimeryzm pełny i wybór najbardziej miarodajnej populacji komórek wymaga dalszych badań.

P17. NAPROMIENIANIE CAŁEGO CIAŁA W SKOJARZENIU Z FLUDARABINĄ JAKO LECZENIE KONDYCJONUJĄCE PRZED ALLOTRANSPLANTACJĄ KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH U PACJENTÓW Z OSTRĄ BIAŁACZKĄ SZPIKOWĄ – ANALIZA JEDNOOŚRODKOWA

lek. Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka¹,
lek. Małgorzata Ociepa¹, dr Tomasz Czerw¹,
lek. Włodzimierz Mendrek¹, dr Jacek Najda¹,
dr Maria Saduś-Wojciechowska¹,
lek. Katarzyna Michalak¹, dr Andrzej Frankiewicz¹,
dr Magdalena Głowala-Kosińska¹,
mgr Agata Chwieduk¹, dr hab. Sławomir Blamek²,
prof. Leszek Mischczyk¹, prof. Jerzy Hołowiecki¹,
prof. Sebastian Giebel¹

¹Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii,
Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie,
Oddział w Gliwicach

²Zakład Radioterapii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Wstęp: Allotransplantacja komórek krwiotwórczych (alloHCT) jest leczeniem z wyboru u pacjentów z ostrą białaczką szpikową pośredniego i wysokiego ryzyka, a także w nawrotowej postaci. Najczęściej stosowanym leczeniem kondycjonującym na świecie jest połączenie cyklofosfamidu z napromienianiem całego ciała (TBI) lub z busulfanem, cechuje je jednak znaczna toksyczność. Skojarzenie TBI 8 Gy z fludarabiną było przedmiotem jednego badania prospektywnego. Kondycjonowanie TBI 12 Gy z fludarabiną nie było do tej pory raportowane. W tutejszym ośrodku w latach 2012–2016 stosowano TBI 8 Gy lub 12 Gy z fludarabiną.

Cel: Celem pracy jest ocena wyników leczenia.

Materiał i metody: Analizą objęto 54 chorych (kobiety – 31, mężczyźni – 23) w wieku 46 lat (mediana, zakres 20–67 lat) leczonych alloHCT od dawcy rodzinnego (32) lub niespokrewnionego (22). Stadium choroby przed procedurą: CR1 – 44, CR2 – 6, CR3 – 1, PR – 1 oraz NR – 2 pacjentów. TBI stosowano w dawkach frakcyjnych 4 Gy raz dziennie. O wielkości dawki łącznej decydował wiek i stan biologiczny pacjenta. Decyzja o wielkości zastosowanej dawki TBI (8 Gy vs 12 Gy) zależała od wieku i chorób współistniejących. 27 pacjentów otrzymało dawkę 8 Gy, pozostali 12 Gy. W leczeniu immunosupresyjnym stosowano cyklosporynę + metotreksat ± ATG. Materiałem transplantacyjnym były komórki krwiotwórcze z krwi obwodowej.

Wyniki i wnioski: Mediana czasu odnowy neutrofili (ANC > 0,5 G/l) wyniosła 17 dni w grupie 8 Gy oraz 16 dni w grupie 12 Gy. GvHD ostre w stopniu 3.–4. wystąpiło u 4 pacjentów w grupie 8 Gy i u 1 w grupie 12 Gy. GvHD przewlekłe w postaci rozległej wystąpiło u jednego pacjenta w grupie 12 Gy. Nie odnotowano powikłań narządowych w stopniu IV. Prawdopodobieństwo OS po 2 latach wyniosło 62% (± 10%) w grupie 8 Gy, a 80%

(± 11%) w grupie 12 Gy ($p = 0,14$). Prawdopodobieństwo PFS wyniosło odpowiednio 58% (± 10%) i 77% (± 11%) ($p = 0,16$). 15 pacjentów zmarło. Najczęstszą przyczyną zgonu były powikłania infekcyjne (9) oraz progresja choroby (5). Skojarzenie fludarabiny z TBI cechuje się dobrą tolerancją (brak ciężkich powikłań narządowych). O ile nie ma przeciwwskazań, preferowaną dawką wydaje się TBI 12 Gy. Skuteczność i bezpieczeństwo schematu leczenia kondycjonującego TBI 12 Gy z fludarabiną wymaga jednak weryfikacji w prospektywnych badaniach klinicznych.

P18. ZAHAMOWANIE AKTYWNOŚCI KINAZY SYK W KOMÓRKACH LSC OSTREJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ (AML) PROWADZI DO OBNIŻENIA KLONOGENNOŚCI ORAZ INDUKCJI RÓŻNICOWANIA I APOPTOZY

dr Anna Polak, dr Przemysław Kiliszek,
dr Tomasz Sewastianik, dr Maciej Szydłowski,
dr Ewa Jabłońska, dr Emilia Białopiotrowicz,
dr Patryk Górniak, Monika Noyszewska-Kania,
Karolina Piechna, Jolanta Woźniak,
Beata Krzymieniewska, Elżbieta Patkowska,
Agnieszka Kołkowska-Leśniak,
prof. Ewa Lech-Marańda, prof. Krzysztof Warzocha,
prof. Przemysław Juszczynski

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: SYK (*Spleen Tyrosine Kinase*) odgrywa istotną rolę w patogenezie AML. Zahamowanie SYK obniża proliferację, stymuluje różnicowanie i apoptozę blastów białaczkowych. Patomechanizm działania SYK jest nieznany.

Cel: Identyfikacja kluczowych szlaków, poprzez które SYK reguluje proliferację, różnicowanie i potencjał klonogeny AML.

Materiał i metody: Linie i blasty AML inkubowano 24–72 godziny z R406 (inhibitor SYK). Aktywność SYK, ERK, STAT5 badano metodą Western blot lub FACS. Proliferację, apoptozę, klonogenność oceniano przez MTS, FACS, hodowlę w metylocelulozie. Do oceny różnicowania wykorzystano barwienie Giemsa, ilościowy NBT, ekspresję CD14/CD15, qPCR. Konstytutywnie aktywny MEKDD, STAT5A1*6 wprowadzono retrowirusowo do linii AML. W badaniach z LSC (*leukemic stem cell*) wykorzystano linię o hierarchicznej organizacji, TEX. Poziom ROS i masę mitochondrialną oceniano barwieniem DCF i MitoTracker GreenFM. Do oceny ekspresji MYC, TFAM, NRF1, NRF2, EF-Tu wykorzystano immunoblot, qPCR.

Wyniki i wnioski: Aby zidentyfikować drogi przekazywania sygnału przez SYK w AML, oceniono aktywność szlaków sygnałowych zależnych od SYK. R406 zahamował aktywność pSYK, pERK, pSTAT5, obniżył proliferację, potencjał klonogeny oraz zwiększył różnicowanie i indukował apoptozę komórek. Aby ocenić

udział ERK w defekcie różnicowania oraz udział STAT5A w regulacji potencjału klonogenego, do komórek AML wprowadzono aktywne mutanty MEK i STAT5 (MEKDD i STAT5A1*6). R406 zwiększył ekspresję markerów różnicowania oraz obniżył klonogenność jedynie w komórkach kontrolnych. Ponadto w komórkach z wprowadzonym STAT5A1*6 obserwowano wyższą ekspresję markerów LSC– (CD25, CD123). R406 silniej zahamował ekspresję tych markerów w komórkach kontrolnych. Wpływ R406 na populację LSC oceniono, wykorzystując linię TEX. R406 obniżył proliferację, potencjał klonogeny i zwiększył apoptozę TEX. Cechą LSC jest wyższa ekspresja MYC i genów biogenezy mitochondriów. Ponieważ STAT5 reguluje MYC, założono, że R406 eliminuje LSC poprzez obniżenie biogenezy mitochondriów. R406 w komórkach TEX i blastach CD34+ obniżył ekspresję MYC, genów biogenezy mitochondriów i masę mitochondrialną. Podsumowując, kinaza SYK blokuje różnicowanie komórek AML poprzez aktywację ERK oraz reguluje klonogenność poprzez STAT5. Ponadto aktywność SYK jest niezbędna dla zachowania ekspresji MYC i genów biogenezy mitochondriów, czynników kluczowych dla utrzymania populacji LSC w AML.

P 19. BIAŁACZKOWE KOMÓRKI MACIERZYSTE A EKSPRESJA GENÓW WIELOLEKOWEJ OPORNOŚCI U CHORYCH NA OSTRĄ BIAŁACZKĘ SZPIKOWĄ

dr med. Karolina Radomska,
dr hab. n. med. Maria Cioch,
dr med. Dariusz Jawniak, dr n. biol. Aneta Gorący,
dr hab. n. med. Anna Kocka,
dr hab. n. med. Janusz Kocki,
dr hab. n. med. Marek Hus

Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Mimo postępu w diagnostyce i leczeniu, ostra białaczka szpikowa (*acute myeloid leukemia* – AML) nadal związana jest z poważnym rokowaniem, zależnym zarówno od pierwotnej oporności na chemioterapię, jak i od nawrotowości. Obecnie uważa się, że istotną tego przyczyną jest duży odsetek białaczkowych komórek macierzystych (*leukemic stem cells* – LSC) w populacji blastów oraz wysoka ekspresja genów i białek wielolekowej oporności na leki (*multidrug resistance* – MDR: MDR1, MRP, BCRP, LRP).

Cel: Głównym celem pracy było wyodrębnienie puli LSC wśród populacji blastów w szpiku chorych na AML oraz ustalenie prognostycznego znaczenia ich odsetka. Poprzez określenie ekspresji genów MDR (MDR1, MRP, LRP i BCRP) założono też ustalenie jej wartości prognostycznej oraz zależności od odsetka LSC.

Materiał i metody: Badania wykonano u 27 uprzednio nieleczonych chorych na AML (20 M i 7 K; mediana

wiek 52 lata). W aspiracie szpiku uzyskanym w pierwszej biopsji diagnostycznej określano metodą cytometrii przepływowej odsetek LSC (populacje: CD34+, CD34+CD33+ oraz CD34+CD33+CD38–). Aspirat szpiku badany był także metodą RT-PCR na ekspresję genów: MDR1, MRP, BCRP i LRP. Wszyscy chorzy otrzymywali w leczeniu schematy indukujące i konsolidujące rekomendowane przez PALG. Uzyskane wyniki ekspresji LSC oraz genów MDR odnoszono m.in. do możliwości uzyskania całkowitej remisji hematologicznej (*complete hematological remission* – CHR).

Wyniki: Mediana ekspresji CD34+, CD34+CD33+ i CD34+CD33+CD38– wyniosła odpowiednio: 48,93%, 47,1% i 4,3%, a mediana ekspresji genów MDR1, MRP, LRP, BCRP: 1,0012%, 0,89%, 0,1136% i 0,8609%. Analiza statystyczna wykazała korelację ($p < 0,05$) między ekspresją genu MDR1 oraz genu LRP a odsetkiem komórek CD34+, CD34+CD33+ i CD34+CD33+CD38–, a także między ekspresją genu MRP oraz genu BCRP a odsetkiem komórek CD34+CD33+. Badania wykazały istotną statystycznie ($p < 0,05$) zależność między grupą ryzyka cytogenetycznego AML a ekspresją genu BCRP w komórkach szpiku. Stwierdzono także, że możliwość uzyskania CR jest tym większa, im mniejsza jest ekspresja genu MDR1 ($p = 0,015124$).

Wnioski: Wyniki leczenia AML w dużym stopniu zależą od odsetka LSC w całej puli blastów białaczkowych, jak również od ekspresji genów i białek wielolekowej oporności na cytostatyki. Powodzenie terapii może zależeć od zastosowania leków, których celem będą LSC i MDR.

HEMOFILIE

PRZEWODNICZĄCY: J. WINDYGA
(WARSZAWA), J. TRELIŃSKI (ŁÓDŹ)

Doniesienia ustne

PODŁOŻE GENETYCZNE I PRZEBIEG KLINICZNY CIĘŻKIEJ HEMOFILII B W POLSCE – WYNIKI PILOTAŻOWE

Anna Buczma, dr Edyta Odnoczek, dr Beata Baran,
dr Ewa Stefańska-Windyga, Adela Gwozdowska,
Janusz Zawilski, prof. Jerzy Windyga

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Przyczyną hemofilii B (HB) jest uwarunkowany genetycznie niedobór czynnika krzepnięcia IX (FIX). Aktywność FIX (FIX:C) w osoczu chorych na ciężką HB jest nieoznaczalna, gdyż wynosi poniżej 1 jednostki międzynarodowej (IU)/dl (w.ref. 50–150 IU/dl). U pacjenta nieleczzonego lub leczonego niewłaściwie ciężka HB objawia się praktycznie zawsze samoistnymi krwawieniami, z tym że nasilenie i częstotliwość tych krwa-

wień wykazują znaczne różnice osobnicze. Różnice te tłumaczy się m.in. różnorodnością mutacji sprawczych HB wykrywanych w genie (F9) kodującym FIX.

Cel: Celem projektu jest wieloaspektowa charakterystyka kliniczna ciężkiej hemofilii B w Polsce. Ważnym elementem tego projektu jest określenie związku zidentyfikowanych mutacji sprawczych w genie F9 z aktywnością koagulacyjną FIX w osoczu oraz nasileniem i rodzajem krwawień, a także występowaniem alloprzeciwciał neutralizujących (tzw. inhibitora) FIX.

Materiał i metody: Do zbierania wywiadu chorobowego wykorzystano specjalnie opracowany kwestionariusz. Dane dotyczące jakości życia oceniano z użyciem kwestionariusza SF36. Przeprowadzono badanie stanu narządu ruchu z oceną funkcji stawów według skali HJHS. Aktywność FIX:C w osoczu oznaczano metodą koagulacyjną jednostopniową, miano inhibitora FIX – metodą Bethesda, a do poszukiwania mutacji sprawczych w F9 wykorzystano metodę automatycznego sekwencjonowania z zastosowaniem ABI3130XL.

Wyniki i wnioski: Do chwili obecnej zbadano 28 pacjentów z 26 rodzin w wieku 5–75 lat (mediana = 36). Liczba miesięcznych krwawień dostawowych w badanej grupie wynosiła od 0 do 6 (mediana 2). Mediana liczby punktów w skali HJHS wynosiła 23. Dziewięciu chorych (32%) doznało krwawień zagrażających życiu (6 pacjentów przeżyło krwawienie wewnątrzczaszkowe). Osoczowa aktywność FIX:C mieściła się w przedziale 0,25–2,05 IU/dl, a obecność inhibitora w mianie 0,9 BU/ml (w.ref. < 0,5 BU/ml) wykryto u jednego pacjenta. Do chwili obecnej sekwencjonowanie genu F9 przeprowadzono u 22 pacjentów. Łącznie wykryto 16 różnych mutacji sprawczych, w tym 15 już znanych [c.133_134delAA, c.400T>C, c.484C>T, c.677G>A, c.679G>T, c.723+3A>T, c.880C>T, c.892C>T, c.944A>T, c.1066T>A, c.1109A>C, c.1135C>T, c.1241C>A, c.1325G>C, c.1359G>A] oraz jedną dotąd nieopisaną [c.89-2A>G].

Wnioski: Dotychczasowe wyniki przeprowadzonego badania wskazują na: 1) wysoką heterogenność mutacji sprawczych F9 oraz 2) ciężki przebieg kliniczny HB w polskiej populacji.

SZPICZAK PLAZMOCYTOWY 1 – POSTĘPY W LECZENIU SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO: OD BADAŃ KLINICZNYCH DO CODZIENNEJ PRAKTYKI

PRZEWODNICZĄCY:

L. USNARSKA-ZUBKIEWICZ (WROCŁAW),
K. GIANNOPOULOS (LUBLIN),
A. JAKUBOWIAK (CHICAGO, USA)

Doniesienia ustne

SST-2 I GDF-15 JAKO NOWOCZESNE MARKERY KARDIOLOGICZNE W AMYLOIDZIE SERCA Z ŁAŃCUCHÓW LEKKICH

lek. Justyna Szczygieł¹, dr Piotr Michałek¹,
dr Joanna Drozd-Sokołowska², dr Piotr Wiecek³,
dr Łukasz Mazurkiewicz¹, prof. Zofia Bilińska¹,
Aleksandra Wróbel¹, prof. Anna Lutyńska¹,
Kozuch Katarzyna¹, Agnieszka Sioma¹,
Monika Gawor¹, Ewa Kucharczyk-Petryka¹,
Magdalena Polańska-Skrzypczyk¹, Natalia Ojrzyńska¹,
Blanka Milanowska¹, Marta Legatowicz-Koprowska⁴,
dr Ewa Walczak⁴, prof. Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek²,
prof. Wiesław Jędrzejczak², prof. Jacek Grzybowski¹

¹Instytut Kardiologii w Warszawie

²Samodzielny Publiczny Centralny Szpital Kliniczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny

³Instytut Systemów Elektronicznych, Politechnika Warszawska

⁴Instytut Reumatologii w Warszawie

Wstęp: Amyloidozę serca z łańcuchów lekkich (AL) objawia się jako kardiomiopatia restrykcyjna (KR). Poszukuje się nowych markerów kardiologicznych, które obok troponiny T i NT-proBNP wspierałyby decyzje terapeutyczne i służyłyby do monitorowania pacjentów.

Cel: Ocena przydatności sST-2 i GDF-15 w rozpoznawaniu amyloidozy serca u pacjentów z kardiomiopatią restrykcyjną.

Materiał i metody: Do badania włączono 16 pacjentów z AS, 20 pacjentów z KR nieamyloidową i 23 osoby bez KR, które stanowiły grupę kontrolną i nie różniły się istotnie wiekiem od pacjentów z dwóch pozostałych grup. Oznaczono stężenia sST-2, GDF-15, troponiny T, NT-proBNP i kreatyniny.

Wyniki i wnioski: Pacjenci z AS istotnie ($p < 0,05$) różnili się od pacjentów z KR nieamyloidową: wiekiem [mediana: 60 lat (przedział: 39–75) vs 46 lat (18–67)]; stężeniami: sST-2 [32,4 ng/ml (przedział: 10,8–105) vs 18,4 ng/ml (6,8–55,3)]; GDF-15 [1480 pg/ml (580–5992) vs 938 pg/ml (260–4528)]; troponiny T [80 ng/l (22–

142,4) vs 29,2 ng/l (3,6–194,9)]; NT-proBNP [5065 pg/ml (2290–35000) vs 1998 pg/ml (92,34–7480)] i kreatyniny [101 μ mol/l (59–136) vs 84,4 μ mol/l (71–84,4)]. Pacjenci z grupy kontrolnej nie różnili się od pacjentów z KR nieamyloidową stężeniami: sST-2 [16,1 ng/ml (6,9–32)], GDF-15 [576 pg/ml (233–1860)] ani kreatyniny [81,4 μ mol/l (57–125)], natomiast mieli istotnie niższe ($p < 0,05$) stężenia troponiny T [3 ng/l (3–21,62)] i NT-proBNP [62,8 pg/ml (5–513,20)]. W grupie kontrolnej współczynnik korelacji Pearsona stężenia kreatyniny i GDF-15 wynosił $R = 0,61$, $p = 0,002$, a stężenia kreatyniny i sST-2 – $R = 0,31$, $p = 0,147$. Nie obserwowano istotnych korelacji stężenia GDF-15 i kreatyniny u pacjentów z AS ani u pacjentów z KR nieamyloidową. Analiza krzywych ROC (*receiver operating characteristic*) wykazała, że punkt odcięcia sST-2 wynoszący 21,8 ng/ml [pole powierzchni pod krzywą ROC (AUC) – 0,723, $p = 0,005$] i punkt odcięcia dla GDF-15 wynoszący 1420 pg/ml (AUC – 0,686; $p = 0,02$) były dobrymi predyktorami AS w całej grupie pacjentów z KR.

Wnioski: sST-2 i GDF-15 mogą być wartościowymi markerami w rozpoznawaniu amyloidozy serca u pacjentów z kardiomiopatią restrykcyjną. Wskazane są dalsze badania obejmujące liczniejsze grupy pacjentów oraz porównujące stężenia sST-2 i GDF-15 u pacjentów z amyloidozą serca i kardiomiopatią restrykcyjną nieamyloidową, którzy nie różniliby się wiekiem ani stężeniem kreatyniny.

JAK LECZYMY DIALIZOWANYCH CHORYCH NA SZPICZAKA W POLSCE? CHARAKTERYSTYKA, SPOSOBY I WYNIKI LECZENIA CHORYCH NA SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO WYMAGAJĄCYCH DIALIZOTERAPII – RAPORT POLSKIEJ GRUPY SZPICZAKOWEJ

dr n. med. Anna Waszczuk-Gajda¹,
dr n. med. Joanna Drozd-Sokołowska¹,
dr hab. n. med. Grzegorz Władysław Basak¹,
dr n. med. Piotr Boguradzki¹,
dr n. med. Krzysztof Mądry¹,
dr n. med. Anna Kopińska²,
prof. dr hab. n. med. Iwona Hus³,
prof. dr hab. n. med. Tomasz Wróbel⁴,
dr Magdalena Olszewska-Szopa⁴,
dr n. med. Jarosław Dybko⁴,
prof. dr hab. n. med. Magdalena Krajewska⁵,
prof. dr hab. n. med. Krzysztof Jamrozik⁶,
dr Aleksander Salamon-Perzyński⁶,
dr Weronika Nowak⁷, dr n. med. Edyta Subocz⁸,
dr n. med. Andrzej Hałka⁸, dr n. med. Danuta Błońska⁹, dr n. med. Agnieszka Druzd-Sitek¹⁰,
dr n. med. Anna Wiśniewska¹¹, dr n. med. Paweł Bernatowicz¹², dr hab. n. med. Artur Jurchyszyn¹³,

dr n. med. Agnieszka Barchnicka¹⁴,
dr Hanna Ciepluch¹⁵, dr n. med. Norbert Grząsko¹⁶,
dr n. med. Agata Tyczyńska¹⁷, dr n. med. Wanda Knopińska-Postuszny¹⁸, dr Anna Stanisławek¹⁹,
prof. dr hab. n. med. Joanna Matuszkiewicz-Rowińska²⁰,
prof. dr hab. n. med. Wiesław Wiktor Jędrzejczak¹,
prof. dr hab. n. med. Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek¹

¹Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Klinika Hematologii, Katowice

³Samodzielna Pracownia Transplantologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁴Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Wrocław

⁵Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

⁶Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁷Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

⁸Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie

⁹Klinika Hematologii, Szpital Uniwersytecki nr 2 im. dr. Jana Biziela w Bydgoszczy

¹⁰Klinika Nowotworów Układu Chłonnego, Centrum Onkologii – Instytut, Warszawa

¹¹Oddział Onkologii i Chemioterapii, Szpital Wojewódzki w Koszalinie

¹²Klinika Hematologii, Uniwersytecki Szpital Kliniczny w Białymstoku

¹³Klinika Hematologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

¹⁴Oddział Hematologiczny, SPZOZ Chorzów

¹⁵Wojewódzkie Centrum Onkologii w Gdańsku

¹⁶Oddział Hematologiczny, Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej

¹⁷Oddział Radioterapii i Onkologii Klinicznej, Gdyńskie Centrum Onkologii

¹⁸SPZOZ MSWiA, Warmińsko-Mazurskie Centrum Onkologii w Olsztynie, Polska

¹⁹Klinika Hematologii i Onkologii MSWiA, Warszawa, Polska

²⁰Klinika Nefrologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Niewydolność nerek, szczególnie zależność od dializoterapii, pogarsza rokowanie chorych na szpiczaka plazmocytozy.

Cel: Celem pracy była charakterystyka chorych na szpiczaka plazmocytozy wymagających dializoterapii w dowolnym momencie przebiegu choroby, analiza metod oraz wyników leczenia.

Materiał i metody: Retrospektywna analiza chorych dializowanych z ośrodków polskich w ramach Polskiej Grupy Szpiczakowej.

Wyniki i wnioski: Analizą objęto 137 chorych [41% mężczyzn, wiek 61 (36–86)] leczonych w latach 2002–2016 poddawanych hemodializoterapii (94%) lub dializoterapii otrzewnowej (6%). U 23% (32 chorych) stwierdzono białko monoklonalne łańcuch lekkiego lambda. Dziewięćdziesięciu trzech chorych (68%) wymagało dializoterapii zarówno w momencie rozpoznania, jak i w trakcie terapii (grupa A), 19 chorych (14%) uniezależniło się od dializ w czasie leczenia i obserwacji (grupa B), natomiast 24 chorych (18%) nie wymagało dializoterapii wyjściowo i do konieczności dializoterapii.

pii doszło później (objaw progresji choroby podstawowej) (grupa C). Mediany przeżycia chorych z trzech ww. grup wynosiły odpowiednio: 4,2 roku (grupa A) vs 7,5 roku (grupa B) vs 3 lata (grupa C) ($p = 0,02$). W zależności od roku, w którym prowadzono leczenie, a także od tego, którą linię leczenia stosowano, schematy terapii były oparte najczęściej o: talidomid, cyklofosfamid, bortezomib z glikokortykosteroidami (GKS), ale w latach wcześniejszych także o winkrystynę, dokso-rubicynę w skojarzeniu z GKS; mediana liczby linii leczenia wynosiła 2,5. U 32 chorych przeprowadzono autologiczne przeszczepienie macierzystych komórek krwiotwórczych. Chorzy w stanie ogólnym wg WHO ≤ 2 w porównaniu z chorymi z WHO > 2 mieli znacznie lepsze przeżycie: odpowiednio 4,5 roku vs 0,65 roku, $p = 0,006$. Uzyskanie co najmniej stabilizacji choroby po zakończonej pierwszej linii leczenia było związane z lepszym rokowaniem chorych, mediany przeżycia 5,5 roku vs 1,55 roku ($p = 0,002$). Uniezależnienie od dializ 3,941-krotnie zmniejszało ryzyko zgonu. Chorzy na szpiczaka plazmocytozowego z niewydolnością nerek to grupa chorych z zaawansowaną chorobą podstawową o heterogennym przebiegu klinicznym. Najważniejszymi korzystnymi czynnikami rokowniczymi były dobry stan ogólny chorych, co najmniej stabilizacja choroby jako odpowiedź na pierwsze zastosowane leczenie oraz uniezależnienie od dializ. Chorzy, którzy początkowo nie wymagali dializoterapii, a doszło do jej konieczności w trakcie leczenia, mieli najgorsze rokowanie.

SZPICZAK PLAZMOCYTOWY 2 – NIETYPOWE MANIFESTACJE KLINICZNE SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO I INNE POWIKŁANIA W PRZEBIEGU DYSKRAZJI PLAZMOCYTOWYCH

PRZEWODNICZĄCY
A. DMOSZYŃSKA (LUBLIN),
W.W. JĘDRZEJCZAK (WARSZAWA)

Doniesienia ustne

PORÓWNANIE WYNIKÓW LECZENIA
CHORYCH NA BIKLONALNĄ
I MONOKLONALNĄ POSTAĆ
SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO.
WIELOOŚRODKOWE, MIĘDZYNARODOWE
BADANIE Z GRUPĄ KONTROLNĄ

lek. Barbara Lewicka

Szpital Uniwersytecki w Krakowie

Wstęp: Szpiczak plazmocytozowy jest nowotworem układu chłonnego charakteryzującym się wytwarzaniem białka monoklonalnego przez klonalne nowotworowe plazmocyty. Zwykle produkowany jest jeden typ łańcucha ciężkiego i jeden typ łańcucha lekkiego. U mniej niż 5% pacjentów można wykryć więcej niż jeden typ białka monoklonalnego.

Cel: Celem tego retrospektywnego badania było opisanie pacjentów z biklonalną postacią szpiczaka i porównanie ich z grupą kontrolną pacjentów z monoklonalnym szpiczakiem oraz zbadanie wpływu biklonalności choroby na wynik leczenia.

Materiał i metody: Do badania włączono pacjentów z nowo zdiagnozowanym szpiczakiem plazmocytozowym pomiędzy 2001 r. a 2015 r. Do badania włączono łącznie 50 pacjentów z biklonalnym szpiczakiem i 50 pacjentów do grupy kontrolnej z rozpoznaną monoklonalną postacią choroby. Grupy były dopasowane 1 : 1 pod względem wieku (± 2 lata), płci, roku diagnozy (± 2 lata) i w obrębie tego samego ośrodka badawczego. Biklonalność została określona przez obecność dwóch klonów zidentyfikowanych dzięki elektroforezie białek surowicy, elektroforezie moczu i/lub immunofiksacji. Klony mogą produkować różne typy łańcucha ciężkiego (np. IgG, IgA lub IgM) oraz różne typy wolnego łańcucha lekkiego (kappa, lambda) oprócz typu łańcucha ciężkiego (np. IgG kappa i wolne kappa) lub inny typ wolnego łańcucha w tym samym typie łańcucha ciężkiego (np. IgG kappa i IgG lambda).

Wyniki i wnioski: Nie stwierdzono różnic w częstości występowania anemii (biklonalne vs monoklonalne: 52% vs 59%, $p = 0,52$), dysfunkcji nerek (36% vs 34%, $p = 0,83$), hiperkalcemii (9% vs 16%, $p = 0,28$), obecności zmian litycznych (23% vs 16%, $p = 0,38$) pomiędzy grupami. Ponadto nie stwierdzono różnic statystycznych pomiędzy badaniem a kontrolą, jeśli chodzi o leczenie pierwszej linii, liczbę cykli chemioterapii, częstość przeprowadzenia autologicznych przeszczepów i leczenia podtrzymującego. Nie było różnicy w częstości wystąpienia całkowitej odpowiedzi na leczenie (85% vs 90%, $p = 0,88$) lub wskaźniku przeżywalności w przypadkach szpiczaka biklonalnego i kontrolach ze szpiczakiem monoklonalnym (4-letnie przeżycie 72% vs 76%, $p = 0,23$). Nasze badania wykazują, że przy przyjmowaniu podobnych metod leczenia (w tym leczenie z ASCT) nie ma różnic w rokowaniu – pacjenci ze szpiczakiem biklonalnym mają podobną odpowiedź na leczenie oraz czas przeżycia jak pacjenci ze szpiczakiem monoklonalnym.

INFECTIOUS COMPLICATIONS IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTS AFTER HIGH DOSE CHEMOTHERAPY AND AUTOLOGOUS STEM CELL TRANSPLANTATION – MULTICENTER ANALYSIS OF THE POLISH ADULT LEUKEMIA GROUP PALG – MINF-PALG STUDY

dr Anna Waszczuk-Gajda¹,
dr n. med. Joanna Drozd-Sokołowska¹,
dr hab. n. med. Grzegorz Władysław Basak¹,
dr n. med. Jarosław Dybko², dr Monika Biernat²,
prof. dr hab. n. med. Sebastian Giebel³,
prof. dr hab. n. med. Sławomira Kyrzcz-Krzemien⁴,
dr hab. n. med. Joanna Mańko⁵,
prof. dr hab. n. med. Marek Hus⁵,
dr n. med. Patrycja Mensah-Glanowska⁶,
dr n. med. Agnieszka Piekarska⁷,
dr Alicja Sadowska-Klasa⁷,
prof. dr hab. n. med. Piotr Rzepecki⁸,
prof. dr hab. n. med. Agnieszka Wierzbowska⁹,
dr Artur Bandura¹⁰, dr Monika Przybylska¹⁰,
dr n. med. Joanna Romejko-Jarosińska¹¹,
dr n. med. Agnieszka Tomaszewska¹²,
dr n. med. Mariola Sędzimirska¹³,
dr Natalia Winciorek¹³,
prof. dr hab. n. med. Mieczysław Komarnicki¹⁰,
prof. dr hab. n. med. Wiesław Wiktor Jędrzejczak¹,
prof. dr hab. n. med. Lidia Gil¹⁰

¹Department of Hematology, Oncology and Internal Diseases, Warsaw Medical University

²Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Medical University of Wrocław

³Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch, Department of Bone Marrow Transplantation and Onco-Hematology, Gliwice

⁴Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Medical University of Silesia, Katowice

⁵Department of Haematology and Bone Marrow Transplantation, Medical University of Lublin

⁶Department of Hematology, Jagiellonian University, Kraków

⁷Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Medical University of Gdańsk

⁸Department of Hematology, Military Medical Institute, Warsaw

⁹Department of Hematology, Medical University of Łódź

¹⁰Department of Hematology, University of Medical Sciences, Poznań

¹¹Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw Branch, Department of Lymphoid Diseases, Warsaw

¹²Institute of Hematology and Transfusion Medicine

¹³Lower Silesian Cell Transplant Center, Wrocław

Introduction: The most important cause of morbidity and mortality in patients diagnosed with multiple myeloma (MM) remain infections.

Aim: As auto-SCT is a standard procedure in patients younger than 65-70, we would like to analyze

the incidence, etiology and outcome of infections in pts undergoing auto-SCT in the era of novel anti-myeloma drugs given for induction.

Material and methods: Data on the incidence, etiology and outcome of infections up to 100 day after transplant were collected retrospectively for years 2012-2014 (according to Poltransplant, 1487 autoSCT for MM were performed) from all 13 polish transplant centers.

Results and conclusions: 524 episodes of infections were reported for 371 pts in median age 58 (range: 21-72), men 52%. Before transplant pts were treated with induction based on thalidomide and/or bortezomib. Almost all patients were conditioned with melphalan. The number of bacterial episodes was 470 episodes in 355 patients with median time to infection development 9 (range: 1-61) days. 287 episodes were microbiologically confirmed, 34 clinically confirmed, in 149 cases FUO was diagnosed. Among bacterial complications BSI were seen in 133 pts (including 25 with catheter-related), UTI in 60 and pneumonia in 24 pts. Neutropenic fever in carriers of resistant bacteria was seen in 58 pts. Gram-negative bacteria (154 episodes) predominated over Gram-positive (99 episodes), and mixed infections (3 episodes), with the most common *Escherichia coli* in 55 episodes, *Klebsiella pneumoniae* in 35 episodes and *Pseudomonas aeruginosa* in 21 episodes. The most common Gram-positive bacteria was MRSE in 35 episodes, followed by *Enterococcus* sp. in 17 episodes. *Clostridium difficile* diarrhoea was seen in 31 pts. MRD species included ESBL+ (33% of *Escherichia coli* and 75% of *Klebsiella pneumoniae*), MBL+ (21% of *Klebsiella pneumoniae*) and VRE representing 22% of *Enterococcus* sp. There were 25 episodes of viral infections. Invasive fungal infections (IFI) were diagnosed in 32 pts. There were 15 (1.0%) deaths due to infections after autoSCT. 9 pts died due to septic shock caused by MRD species, in 4 of them (and in 6 other patients – altogether in 10 patients) IFI contributed to death. The risk factors of death were: infection with MDR bacteria vs. other infections and coexistence of invasive fungal infection vs absence of IFI, respectively OR 10.9 ($p = 0.0296$) and 14.4 ($p = 0.0008$). Infections with resistant bacteria during neutropenia in MM pts undergoing autoHCT remain an issue.

EKSPRESJA RECEPTORA PROGRAMOWANEJ ŚMIERCI 1 (PD-1) NA LIMFOCYTACH T U CHORYCH NA SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO

mgr Maciej Korpysz¹, dr Agnieszka Karczmarczyk²,
mgr Joanna Purkot², mgr Joanna Zaleska²,
dr Norbert Grząsko^{2,3}, dr Marta Morawska^{2,3},
dr hab. Paulina Własiuk², mgr Sylwia Biłska⁴,
dr hab. Helena Donica¹, dr hab. Marek Hus⁴,
prof. dr hab. Krzysztof Giannopoulos^{2,3}

¹Zakład Diagnostyki Biochemicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Oddział Hematologiczny, Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej im. św. Jana z Dukli, Lublin

⁴Katedra i Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Badania ostatnich lat wskazują na udział częstotliwości programowanej śmierci komórki (PD-1) w modulowaniu mikrośrodowiska nowotworu. Związanie receptora PD-1 limfocytów T z jego ligandem (PD-L1), którego ekspresję stwierdzano na komórkach nowotworowych, prowadzi do blokowania aktywności limfocytów T. Zwiększoną ekspresję PD-L1 wykazano również na nowotworowych plazmocytach, co może świadczyć o udziale szlaku PD-1/PD-L1 w hamowaniu odpowiedzi immunologicznej u chorych na szpiczaka plazmocytozowego (MM).

Cel: Celem pracy było scharakteryzowanie ekspresji PD-1 w populacji limfocytów T u chorych na szpiczaka plazmocytozowego we krwi obwodowej oraz szpiku.

Materiał i metody: Badaniem objęto 62 pacjentów z nowo rozpoznanym MM oraz 30 osób zdrowych. Materiał do badań stanowiła krew obwodowa ($n = 21$) oraz aspiraty szpiku kostnego ($n = 45$), z których izolowano komórki jednojądrzaste. Materiałem badanym osób zdrowych była krew obwodowa. Oceny ekspresji antygenów powierzchniowych CD3, CD4, CD8, PD-1 dokonano metodą cytometrii przepływowej z zastosowaniem odpowiednich przeciwciał monoklonalnych (anty-CD3 Per CP, anty-CD4 FITC, anty-CD8 PE, anty-PD-1 APC, Becton Dickinson).

Wyniki: W badaniu stwierdzono, że odsetek limfocytów T CD8+ z ekspresją PD-1 w szpiku był istotnie wyższy niż we krwi obwodowej chorych na MM (mediana = 6,6 vs 3,5%; $p = 0,03$) oraz osób zdrowych (6,6 vs 4,48%; $p = 0,015$). Podobnej zależności nie zaobserwowano dla odsetka limfocytów T CD4+ PD-1+. Nie wykazano również istotnych różnic w subpopulacjach limfocytów T z ekspresją PD-1+ we krwi obwodowej grupy badanej w porównaniu z grupą osób zdrowych. Dodatkowo stwierdzono, że ekspresja PD-1 w grupie chorych na limfocytach T CD8+ w szpiku była istotnie wyższa niż na limfocytach T CD4+ (6,6 vs 2,7%; $p < 0,0001$), natomiast we krwi obwodowej nie obserwowano istotnych różnic (3,5 vs 2,6%; $p = 0,07$).

Wnioski: Zwiększony odsetek limfocytów CD8+ z ekspresją PD-1 w szpiku chorych na MM wskazuje na udział nowotworowych plazmocytów w kształtowaniu ekspresji PD-1 na limfocytach T, co umożliwia komórkom szpiczakowym ucieczkę spod nadzoru układu immunologicznego i może stanowić interesujący cel terapii z zastosowaniem przeciwciał blokujących cząsteczkę PD-1.

SZPICZAK PLAZMOCYTOWY 1 I 2

Plakaty

P1. SUPPRESSION OF THE NONINVOLVED POLYCLONAL IGM CORRELATES WITH POOR SURVIVAL OF PATIENTS WITH IGM MULTIPLE MYELOMA

prof. Maria Kraj, prof. Ryszard Poglód,
dr Barbara Kruk, prof. Krzysztof Warzocha,
prof. Monika Prochorec-Sobieszek

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Introduction: IgM multiple myeloma (MM) is a rare and poorly characterized disease. Recently developed heavy light chain (HLC, HevyliteR) assay allow measurement of the monoclonal and of the noninvolved polyclonal immunoglobulins of the same isotype as the M-protein, which was not possible before. It was reported that suppression of the noninvolved pair of the myeloma isotype correlates with poor survival in patients with IgG myeloma (Ludwig et al. Am J Hematol 2016; 91: 295).

Aim: Aim of this study was to present clinical and laboratory results of long-term observations of patients with IgM MM and to evaluate the impact of the suppression of the noninvolved polyclonal IgM on outcome in IgM MM patients.

Material and methods: Fifteen IgM MM patients selected from a group of 889 MM patients (1.6%) diagnosed and treated for several years at our Institute were subject of this analysis. For analysis of serum proteins new Hevylite and Freelite assays (Binding Site) were applied as well as immunofixation (IFE) using Sebia reagents.

Results: Clinical presentation of IgM MM patients is heterogenic starting with typical form for non IgM MM through predominant form with hyperviscosity syndrome and severe disease course to slow and latent form. Median real overall survival (OS) of IgM MM patients was 50 months, 5 patients survived > 7 years and 2 > 12 years. Lytic bone lesions were found in 11 (73%) patients. Urine monoclonal free light chains (FLC) detected by IFE was present in 60% of patients and increased concentrations of involved monoclonal FLC and abnormal FLC κ/λ ratio in serum (by Freelite)

in 75% of patients. It was shown that IgM clonality in IgM MM patients can be determined by using HLC assays – Hevylite. IFE and HLC ratios were concordant in all assessed patients. It was found that suppression of noninvolved polyclonal IgM – detectable by using IgM HLC test – has prognostic significance. Evaluation of IgM HLC in 13 patients with IgM MM at diagnosis revealed a decreased concentration of noninvolved IgM (HLC IgM κ < 0.33 g/L, HLC IgM λ < 0.20 g/L) in 5 patients and normal values in 8 patients. Median OS in patients with a decreased noninvolved IgM was 15 months and in patients with normal polyclonal IgM 55 months ($p < 0.01$).

Conclusions: Clinical presentation of IgM MM patients is heterogenic with median survival 50 (range 5-154) months. Suppression of the noninvolved polyclonal IgM is a risk factor for shorter survival in patients with IgM MM.

P2. LIGHT CHAIN ESCAPE IN 9 CASES: EVIDENCE OF INTRACLONAL HETEROGENEITY IN MULTIPLE MYELOMA

prof. Maria Kraj¹, dr Kelly Endean²,
dr Barbara Kruk¹, prof. Krzysztof Warzocha¹,
dr Katarzyna Budziszewska¹, dr Monika Dąbrowska¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Binding Site Group Ltd, Birmingham, United Kingdom

Introduction: Intra-clonal heterogeneity in multiple myeloma (MM) has become a well-accepted phenomenon. One such example is light chain escape (LCE) which is defined as an increase in monoclonal free light chains (FLC) without a corresponding increase in monoclonal intact immunoglobulins. Here we report 9 cases of LCE-MM including progression of a biclonal MGUS.

Aim: To evaluate routine sFLC measurement to identify intra-clonal heterogeneity in MGUS and MM patients.

Material and methods: One MGUS and eight MM patients (4 M, 5 F, median age 65 years range 48-75; 4 IgG κ , 1 IgG λ , 2 IgA κ , 2 IgA λ) were serially monitored with serum protein electrophoresis (SPE), immunofixation (IFE) and sFLC (Freelite).

Results: A biclonal MGUS patient (IgG κ : 3.9 g/L, λ FLC: 316 mg/L) was treated with methylprednisolone for polymyalgia rheumatica (PMR) that coincidentally reduced the IgG κ M-protein (IFE trace) and normalised the κ/λ sFLC ratio. Four months before progression to MM, whilst the IgG κ concentration remained stable, the κ/λ sFLC ratio became abnormal and dFLC level increased to 1052 mg/L (κ/λ ratio: 0.008), indicating emergence of a λ FLC clone. The patient progressed with severe renal impairment (creatinine 6.19 mg/dL; eGFR 7.03 ml/min/1.73 m²) and 70% clonal bone mar-

row plasma cells. At this time the dFLC concentration had increased to 9726 mg/L and the IgG κ M-protein was not detectable by IFE, indicating progression to λ light chain multiple myeloma. Of eight MM patients with LCE, 2 relapsed with renal impairment, 3 with osteolysis, 2 with anaemia and 1 with extramedullary disease. For 5/8 patients, the dFLC concentration increased prior to clinical relapse (median 93.5 days; range 0-378 days) whilst the intact M-protein remained stable or undetectable. Three patients received autologous bone marrow transplant for MM. Novel agents (Talidomide, Lenalidomide and/or Bortezomib) were used in 8 patients. Actual median overall survival of 9 patients with LCE is 48 months (range > 18-108 months). Five patients are alive. The cause of death of 4 patients was progression of MM with severe renal impairment (3 cases).

Conclusions: Intra-clonal heterogeneity may impact on disease progression, including transformation to malignant disease due to the selective outgrowth of a FLC producing clone. Serial monitoring of MGUS and MM patients with sFLC may be beneficial as delayed detection of LCE can result in irreversible organ damage.

P3. PORÓWNANIE WYNIKÓW LECZENIA CHORYCH NA BIKLONALNĄ I MONOKLONALNĄ POSTĄĆ SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO. WIELOOŚRODKOWE, MIĘDZYNARODOWE BADANIE Z GRUPĄ KONTROLNĄ

lek. Barbara Lewicka

Szpital Uniwersytecki w Krakowie

Wstęp: Szpiczak plazmocytowy jest nowotworem układu chłonnego charakteryzującym się wytwarzaniem białka monoklonalnego przez klonalne nowotworowe plazmocyty. Zwykle produkowany jest jeden typ łańcucha ciężkiego i jeden typ łańcucha lekkiego. U mniej niż 5% pacjentów można wykryć więcej niż jeden typ białka monoklonalnego.

Cel: Celem tego retrospektywnego badania było opisanie pacjentów z biklonalną postacią szpiczaka i porównanie ich z grupą kontrolną pacjentów z monoklonalnym szpiczakiem oraz zbadanie wpływu biklonalności choroby na wynik leczenia.

Materiał i metody: Do badania włączono pacjentów z nowo zdiagnozowanym szpiczakiem plazmocytowym pomiędzy 2001 r. a 2015 r. Do badania włączono łącznie 50 pacjentów z biklonalnym szpiczakiem i 50 pacjentów do grupy kontrolnej z rozpoznaną monoklonalną postacią choroby. Grupy były dopasowane 1 : 1 pod względem wieku (± 2 lata), płci, roku diagnozy (± 2 lata) i w obrębie tego samego ośrodka badawczego.

Biklonalność została określona przez obecność dwóch klonów zidentyfikowanych dzięki elektroforezie białek surowicy, elektroforezie moczu i/lub immunofiksacji. Kłony mogą produkować różne typy łańcucha ciężkiego (np. IgG, IgA lub IgM) oraz różne typy wolnego łańcucha lekkiego (kappa, lambda) oprócz typu łańcucha ciężkiego (na przykład IgG kappa i wolne kappa) lub inny typ wolnego łańcucha w tym samym typie łańcucha ciężkiego (np. IgG kappa i IgG lambda).

Wyniki i wnioski: Nie stwierdzono różnic w częstości występowania anemii (biklonalne vs monoklonalne: 52% vs 59%, $p = 0,52$), dysfunkcji nerek (36% vs 34%, $p = 0,83$), hiperkalcemii (9% vs 16%, $p = 0,28$), obecności zmian litycznych (23% vs 16%, $p = 0,38$) pomiędzy grupami. Ponadto nie stwierdzono różnic statystycznych pomiędzy badaniem a kontrolą, jeśli chodzi o leczenie pierwszej linii, liczbę cykli chemioterapii, częstość przeprowadzenia autologicznych przeszczepów i leczenia podtrzymującego. Nie było różnicy w częstości wystąpienia całkowitej odpowiedzi na leczenie (85% vs 90%, $p = 0,88$) lub wskaźniku przeżywalności w przypadkach szpiczaka biklonalnego i kontrolach ze szpiczakiem monoklonalnym (4-letnie przeżycie 72% vs 76%, $p = 0,23$). Nasze badania wykazują, że przy przyjmowaniu podobnych metod leczenia (w tym leczenie z ASCT) nie ma różnic w rokowaniu – pacjenci ze szpiczakiem biklonalnym mają podobną odpowiedź na leczenie oraz czas przeżycia jak pacjenci ze szpiczakiem monoklonalnym.

Material and methods: The medical records of 24 patients who were mobilized in ambulatory setting with this new protocol were analyzed retrospectively. Mobilization protocol: 400 mg/m² of AraC were given on days +1 and +2 (Tuesday and Wednesday), G-CSF at the dose 5 µg/kg/day started on day +5 and tailored to 10 µg/kg/day divide in two doses on days +10 and +13, apheresis started on day +14 in all patients regardless of CD34+ count.

Results: All patients successfully mobilized $> 5 \times 10^6$ CD34+ cell per kg (with 96% achieving $> 6 \times 10^6$ CD34+ cell per kg). On average patient collected 12.7×10^6 CD34+ cell per kg. The median time between the last cycle of chemotherapy and first dose of Ara-C for mobilization was 17 days (4 to 32 days). 100% patients after Ara-C and tailored G-CSF started apheresis on day +14. The 65% of patients experienced the side effects of G-CSF including bone pain. None of the patients developed neutropenia or needed transfusions (the lowest PLT count in studied patients was 74 G/L) or any complication requiring additional visit in outpatient department. As for economic impact – 16 days of hospitalization were saved per patient and also +3500 PLN income per patient was achieved when compared to other chemotherapy based mobilizations.

Conclusions: The novel protocol of mobilization with almost perfect results overcomes all major disadvantages of all currently used mobilization regimens in multiple myeloma. The double blind randomized trial comparing G-CSF with very low Ara-C and escalated G-CSF is in preparation.

P4. NOVEL PROTOCOL FOR AMBULATORY MOBILIZATION OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTS – VERY LOW DOSES OF ARA-C AND TAILORED G-CSF

dr hab. n. med. Emilian Snarski,
dr Elżbieta Urbanowska, lek. Martyna Maciejewska,
dr Anna Waszczuk-Gajda, mgr Małgorzata Król,
prof. Wiesław Wiktor-Jędrzejczak

Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Introduction: The modern protocols of hematopoietic stem cell mobilization are either based on G-CSF, chemotherapy and G-CSF or G-CSF with plerixafor. The G-CSF alone has the lowest number of collected cells, chemotherapy and G-CSF usually leads to severe neutropenia and thrombocytopenia and G-CSF with plerixafor generates very high cost of therapy.

Aim: In aim to overcome all the deficiencies of mentioned protocols we reduced the dose of the Ara-C and adjusted the doses of G-CSF given prior to apheresis. The described modification led to the excellent mobilization results in multiple myeloma patients in ambulatory setting.

P5. RESULTS OF TREATMENT OF MULTIPLE MYELOMA SECONDARY TO ANTI-CANCER THERAPY – INTERNATIONAL, MULTICENTER RETROSPECTIVE STUDY

dr hab. n. med. Sebastian Grosicki¹,
dr Agnieszka Barchnicka², dr Małgorzata Gajewska³,
dr Erden Atilla⁴, dr Meral Beksac⁴,
prof. Roman Hajek⁵, dr Daniel Horinek⁵,
dr Anna Waszczuk-Gajda⁶, dr Krzysztof Mądry⁶,
dr Barbara Lewicka⁷,
dr Renata Guzik-Kazimierzczak⁸,
dr hab. n. med. Artur Jurczyszyn⁷

¹Zakład Profilaktyki Chorób Nowotworowych, Wydział Zdrowia Publicznego, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska

²Studium Doktoranckie, Zakład Profilaktyki Chorób Nowotworowych, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska

³Klinika Hematologii i Chorób Wewnętrznych, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie, Polska

⁴Hematology Department and Bone Marrow Transplantation Unit, Ankara University Medical School, Ankara, Turkey

⁵University Hospital Ostrava and Faculty of Medicine, University of Ostrava, Ostrava, Czech Republic

⁶Department of Hematology, Oncology and Internal Medicine, Warsaw Medical University, Warsaw, Poland

⁷Department of Hematology, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland

⁸Department of Hematology, Pomeranian Medical University, Szczecin, Poland

Introduction: Knowledge about multiple myeloma secondary to cancer treatment (sMM) is limited. There are only single case reports available in the literature regarding to sMM. This is probably associated with the fact that multiple myeloma as a secondary malignancy is rare when compared to secondary AML or MDS.

Aim: The aim of the study was to investigate the characteristics and the treatment results of sMM patients.

Material and methods: The study included 60 caucasian sMM patients from 5 polish centers, 1 from Turkey and 1 from the Czech Republic, 50% – female, the median age was 66 (39-86), ISS I – 19%, II – 32%, III – 41%, Durie-Salmon I – 17%, II – 17%, III – 66%, A – 78%, B – 22%; Normal karyotype – 17%, 13q – 3%, del 17p – 3%, other – 5%. Diagnosis of sMM was preceded by anticancer treatment of solid tumors in 95% patients (most commonly breast cancer 27%, prostate cancer 14%, kidney cancer 12%) and hematological neoplasm in 5% patients. In the frontline, bortezomib-based chemotherapy was used in 57% patients.

Results: Response to treatment was obtained in 57% of patients (CR + VGPR in 37%). In 30% of the patients AHST was performed. Median overall survival (OS) was 8 years (0-12). OS was not dependent on age or treatment.

Conclusions: No studies have been conducted yet on the characteristics and course of treatment of sMM patients. Preliminary analysis does not show significant differences in clinical manifestations, disease characteristics and response to treatment compared to patients with primary MM. However, the issue is very interesting and the initiated research should be continued.

P6. ZWIĄZEK MUTACJI W GENIE BRCA1 C.5266DUPC Z WYSTĘPOWANIEM SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO – DONIESIENIE WSTĘPNE

lek. med. Aneta Szudy-Szczyrek¹,
mgr Małgorzata Michalak-Wojnowska²,
mgr Magdalena Wojciewska-Litwin²,
mgr Iwona Korszeń-Pilecka²,
dr hab. n. med. Agata A. Filip²,
dr hab. n. med. Marek Hus¹

¹Katedra i Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Zakład Genetyki Nowotworów z Pracownią Cytogenetyczną, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Znaczenie kliniczne genów BRCA1/2 w patogenezie raka piersi i jajnika zostało udowodnione ponad 20 lat temu. Od tego czasu prowadzone są badania nad związkiem mutacji genów BRCA1/2 z predyspozycją do innych nowotworów, ich wybranymi cechami klinicznymi oraz odpowiedzią na stosowane leczenie. W patogenezie szpiczaka plazmocytozowego (*multiple myeloma* – MM) uwarunkowania genetyczne odgrywają niezmiernie istotną rolę. U osób z dodatnim wywiadem rodzinnym ryzyko wystąpienia choroby może być nawet 4-krotnie wyższe. Ciągłe jednak trwają poszukiwania czynników genetycznych związanych z podatnością na MM.

Cel: Celem niniejszej pracy było określenie związku pomiędzy mutacją BRCA1 c.5266dupC a wystąpieniem choroby. Omawiana zmiana genetyczna jest najczęściej występującą mutacją założycielską genu BRCA1 w populacji polskiej, skraca białko BRCA1, prowadzi do utraty jego funkcji oraz podnosi ryzyko zachorowania na raka piersi i jajnika do 60–80%.

Materiał i metody: 95 chorych na MM i 100 osób zdrowych zostało poddanych testom genetycznym w kierunku nosicielstwa duplikacji c.5266dupC. DNA zostało wyizolowane z leukocytów krwi obwodowej, genotypowanie wykonano metodą allelospecyficznego amplifikacji.

Wyniki i wnioski: W grupie chorych na MM mutację wykryto u jednego pacjenta (1,05%; $n = 1/95$), w grupie kontrolnej nie stwierdzono nosicielstwa omawianej zmiany ($n = 0/100$). Nosicielem duplikacji c.5266dupC była 66-letnia kobieta, u której MM stanowił pierwotne rozpoznanie. U matki nosicielki zdiagnozowano nowotwór złośliwy narządów rodnych. Teoretycznie częstość

występowania omawianej mutacji w grupie chorych (1,05%) była pięć razy wyższa od częstości nosicielstwa w populacji ogólnej Polski (0,2%), jednak otrzymane wyniki nie pozwalają jednoznacznie stwierdzić związku mutacji BRCA1 c.5266dupC z MM. Zagadnienie to wymaga przeprowadzenia dodatkowych badań na kilkakrotnie większych grupach badawczych.

P7. LIMFOPENIA W PRZEBIEGU CHEMIOTERAPII TALIDOMIDEM, CYKLOFOSFAMIDEM I DEKSAMETAZONEM (CTD) JAKO NIEZALEŻNY CZYNNIK ZŁEGO ROKOWANIA U CHORYCH NA SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO

**lek. med. Aneta Szudy-Szczyrek¹,
dr n. med. Radosław Mlak², dr n. med. Michał Szczyrek^{3,4},
dr n. med. Olga Jankowska-Łęcka¹,
dr hab. n. med. Teresa Małecka-Massalska²,
dr hab. n. med. Marek Hus¹**

¹Katedra i Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Katedra i Zakład Fizjologii Człowieka, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Katedra Interny z Zakładem Pielęgniarstwa Internistycznego, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁴Katedra i Klinika Pneumonologii, Onkologii i Alergologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Limfopenia występuje stosunkowo często w przebiegu zaawansowanych nowotworów złośliwych. Jest nieswoistym wskaźnikiem procesu zapalnego, który może towarzyszyć procesom rozrostowym, a główną przyczyną jej powstania jest zmiana dystrybucji limfocytów w układzie limfatycznym oraz ich wyraźnie przyspieszona apoptoza. Stanowi również dosyć częste powikłanie leczenia przeciwnowotworowego. Udowodniono, że zarówno limfopenia obserwowana przed rozpoczęciem chemioterapii, jak i występująca w jej przebiegu wiąże się ze złym rokowaniem wybranych guzów litych oraz nowotworów hematologicznych. Brakuje natomiast danych dotyczących wpływu limfopenii na przebieg kliniczny szpiczaka plazmocyto- (multiple myeloma – MM).

Cel: Celem pracy było określenie wartości predykcyjnej i prognostycznej limfopenii obserwowanej w trakcie chemioterapii CTD u chorych z rozpoznaniem MM *de novo*.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiło 68 chorych w wieku 39–87 lat (mediana 62) z rozpoznaniem MM, u których w leczeniu pierwszej linii zastosowano trójkowy schemat CTD (mediana cykli leczenia 6, zakres 1–12). Mediana okresu obserwacji wynosiła 27 miesięcy (zakres 2–130). Nasilenie limfopenii oceniono wg kryteriów CTCAE w wersji 4.03. Analiza statystyczna

uzyskanych danych została przeprowadzona przy użyciu programów komputerowych MedCalc 15.8 i Statistica 10. Do oceny prawdopodobieństwa przeżycia i wystąpienia progresji wykorzystano metodę estymacji Kaplana-Meiera oraz regresję logistyczną Coxa.

Wyniki i wnioski: Limfopenię stwierdzono u 38 (55,9%) chorych otrzymujących chemioterapię CTD, w tym u 13 (19,1%) w stopniu ≥ 3 (LIMF $< 200/\text{mm}^3$). Chorzy, u których w przebiegu leczenia nie odnotowano spadku liczby limfocytów lub stwierdzono limfopenię w 1. stopniu, uzyskali istotnie (ok. 2-krotnie) dłuższy wskaźnik przeżycia całkowitego (*overall survival* – OS) w porównaniu z chorymi z limfopenią ≥ 2 . stopnia (82 vs 38 miesięcy; HR = 0,44, 95% CI: 0,18–1,08; $p = 0,0395$). Nie zaobserwowano natomiast statystycznie istotnych różnic dotyczących uzyskiwanych odpowiedzi na zastosowane leczenie (OR = 4,59, 95% CI: 0,93–22,50, $p = 0,0605$) oraz czasu wolnego do progresji choroby (*progression free survival* – PFS) (15 vs 16 miesięcy, HR = 0,93, 95% CI: 0,51–1,69, $p = 0,7986$). Limfopenia ≥ 2 . stopnia wg CTCAE v4.03 obserwowana w trakcie pierwszorazowej chemioterapii CTD u chorych na MM jest niezależnym, niekorzystnym czynnikiem prognostycznym.

P8. POLIMORFIZM GENU ACE A PROAPOPTOTYCZNE I NEKROTYCZNE DZIAŁANIE BORTEZOMIBU *IN VITRO* NA KOMÓRKI SZPIKU POCHODZĄCE OD CHORYCH NA SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO – WYNIKI BADAŃ WSTĘPNYCH

**dr Szymon Zmorzyński¹, mgr Sylwia Popek¹,
mgr Iwona Korszeń-Pilecka¹,
mgr inż. Magdalena Wojcierowska-Litwin¹,
mgr Barbara Kwiatkowska-Drabik¹,
tech. anal. Małgorzata Luterek¹,
dr Sylwia Chocholska², dr Dorota Koczkodaj¹,
dr Waldemar Tomczak²,
dr hab. Grażyna Świderska-Kończak³,
dr Ewa Ochwanowska³, dr hab. Marek Hus²,
dr hab. Marcin Pasiarski⁴,
lek. med. Katarzyna Poniewierska-Jasak⁴,
dr hab. Agata Filip¹**

¹Zakład Genetyki Nowotworów z Pracownią Cytogenetyczną, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Katedra i Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Zakład Fizjologii Zwierząt, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

⁴Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Świętokrzyskie Centrum Onkologii w Kielcach

Wstęp: Enzym konwertujący angiotensynę I (ACE) może brać udział w transformacji nowotworowej i jest

odpowiedzialny za cięcie białek, które wykazują antyproliferacyjne działanie na komórki szpiku. Enzym ten jest kodowany przez gen ACE, w którym występują polimorfizmy w postaci insercji (allel I) i/lub delecji (D). U chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową z genotypami II i ID obserwuje się dłuższy czas przeżycia. Białaczka ta należy do chorób limfoproliferacyjnych, co sugeruje możliwy związek polimorfizmów genu ACE z rokowaniem chorych na szpiczaka plazmocytozowego (PCM).

Cel: Celem pracy było określenie korelacji między polimorfizmami genu ACE u chorych na PCM a odpowiedzią na bortezomib w warunkach *in vitro* oraz ocena zależności między badanymi polimorfizmami a danymi klinicznymi.

Materiał i metody: Materiałem do badań były aspiraty szpiku ($n = 59$) chorych na PCM (bez delecji TP53 i rearanżacji IGHV) i krew obwodowa ($n = 50$) zdrowych dawców. Polimorfizmy genu ACE były oceniane techniką PCR. Hodowle komórek jądrazstych szpiku były poddawane działaniu dawek bortezomibu: 0 nM, 1 nM, 2 nM i 4 nM przez 24 godziny i kończone rutynowo.

Wyniki: Częstość występowania allele D była wyższa niż allele I u osób zdrowych, odpowiednio $f = 66\%$ i $f = 34\%$; oraz w grupie chorych na PCM – $f = 52,5\%$ i $f = 47,5\%$ ($p > 0,05$). Bortezomib zwiększał liczbę komórek apoptotycznych i nekrotycznych we wszystkich badanych genotypach. Największą liczbę komórek apoptotycznych obserwowano w genotypach DD (w grupach 0 nM – 6,53%, 1 nM – 20,55% i 4 nM – 26,74%) i ID (w grupie 1 nM – 18,01%), gdzie $p > 0,05$. Brak wyników istotnych statystycznie stwierdzono w przypadku liczby komórek nekrotycznych, których największe wartości odnotowano w genotypach DD (w grupach 0 nM i 2 nM – odpowiednio 3,57% i 7,37%) i ID (w grupach 1 nM i 4 nM – odpowiednio 5,16% i 12,01%). Największą liczbę żywych komórek obserwowano w genotypie ID ($p > 0,05$) we wszystkich dawkach bortezomibu: 0 nM – 90,54%; 1 nM – 82,15%; 2 nM – 77,92% i 4 nM – 66,76%. Jedyne różnice istotne statystycznie odnotowano w liczbie żywych komórek między genotypami ID i DD w grupie 1 nM ($p = 0,026$).

Wnioski: Wykazano istotny statystycznie dodatni współczynnik korelacji między genotypem DD a obecnością łańcuchów ciężkich oraz między genotypem ID a obecnością łańcuchów lekkich immunoglobulin. Nie stwierdziliśmy istotnej korelacji między czasem przeżycia chorych na PCM a polimorfizmami genu ACE ($p = 0,846$). Prezentowane wyniki nie potwierdzają istotnego związku między polimorfizmami genu ACE a rozwojem PCM oraz działaniem bortezomibu.

P9. COURSE OF MULTIPLE MYELOMA IN PATIENTS YOUNGER THAN 50 YEARS WITH PRESENCE OF CYTOGENETIC ABERRATIONS: SINGLE-CENTER EXPERIENCE

dr Orest Tsyapka, prof. Zvenyslava Maslyak,
dr Iryna Vanko, dr Ostap Leshchuk,
dr Maryana Simonova, dr Anna Lukyanova

SI "Institute of Blood Pathology and Transfusion Medicine of NAMS of Ukraine"

Introduction: Young age is considered prognostically favourable factor in patients (pts) with multiple myeloma (MM). However, we have observed more aggressive course of disease in this group of pts in our clinic.

Aim: To investigate features of karyotype of the neoplastic clones in young pts with MM and their impact on the course of disease and response to therapy.

Material and methods: Cytogenetic examination in 6 pts was performed at diagnosis, in 5 pts – after failure of the first-line therapy. Except for classic karyotyping FISH technique was used with probes to del(13q), del(17p), IGH/MAF, IGH/FGR3, IGH/MAF.

Results: Among 95 pts with MM in our department, 11 younger pts with median age of 37 years (from 32 to 48 years) were selected into a group for further analysis. One patient (38 years) had an acute plasmoblastic leukemia (APL). At the diagnosis 5 pts had stage II and 6 pts – stage III according to ISS. Unfavorable chromosomal aberrations were found in 4 pts. In one case it was del (13q) as single abnormality, in other case del (13q) was accompanied with trisomy 4 and t(11;14). The latter aberration was found in one more patient together with trisomy 4. Patient with APL had del (13q) and t(14;16). One patient at the moment of diagnosis had trisomy 17, but after auto-SCT and maintenance therapy with thalidomide it was eliminated. In one more case hypodiploidy, hypotriploidy was revealed, but FISH analysis was not performed. In summary approximately 55% of patient in this group had chromosomal aberrations, predominantly of unfavourable significance. All pts received bortezomib-containing induction therapy. Auto-SCT with maintenance therapy with one of immunomodulatory agent was performed in 9 pts. After auto-SCT 3 pts achieved CR, VGPR in 1 case, PR in 4 patients, but duration of the response in 3 of them lasted less than 6 months, relapse manifested with extraosseal soft tissue lesions. Repetitive administration of bortezomib had low efficacy. One patient with complex karyotype at the moment of analysis is undergoing tandem SCT.

Conclusions: During recent years percentage of young pts with multiple myeloma has been increasing. Cytogenetic examination revealed higher incidence of unfavorable chromosomal aberrations in this group of patients. Peculiar features of the course of neoplastic process are the following: absence of ex-

pressed bone disease, lower efficacy of auto-SCT, formation of extraosseal soft tissue lesions and resistance to bortezomib-containing regimens of therapy.

P10. SZPICZAK PLAZMOCYTOWY KRĘGOSŁUPA JAKO PROBLEM NEUROCHIRURGICZNY

dr n. med. Dariusz Szczepanek¹,
dr hab. n. med. Ewa Wąsik-Szczepanek²,
dr n. med. Witold Janusz¹,
dr hab. n. med. Bożena Sokołowska²,
prof. dr hab. n. med. Tomasz Trojanowski¹

¹Klinika Neurochirurgii i Neurochirurgii Dziecięcej,
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku,
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Definicja choroby kostnej w przebiegu szpiczaka plazmocytozowego (*multiple myeloma* – MM; *multiple myeloma bone disease* – MMBD) obejmuje bardzo szeroki zakres zarówno objawów klinicznych, jak i zmian anatomicznych. Jednym z najczęściej zgłaszanych przez chorych na MM z chorobą kostną objawów jest ból. Jest on szczególnie nasilony w przypadku lokalizacji zmian chorobowych w kręgosłupie i wywołany złamaniem kompresyjnym trzonów. W przypadku chorych na MM, MMBD dotyczy najczęściej kręgosłupa, a u ok. 11–24% obserwuje się kompresję rdzenia kręgowego. Jest to jedno z najgroźniejszych powikłań MMBD. W każdym przypadku wymaga szczególnej uwagi, a niekiedy szybkiej interwencji chirurgicznej. Udowodniono, że chirurgiczna dekompresja z następową radioterapią w istotny, korzystny sposób wpływa na dalsze losy chorych.

Cel: Retrospektywna analiza chorych na szpiczaka plazmocytozowego poddanych zabiegowi operacyjnemu kręgosłupa.

Materiał i metody: Analizą objęto 22 chorych z rozpoznaniem MM, 9 kobiet i 13 mężczyzn w wieku 47–81 lat (średnio 61 lat). W każdym przypadku dokonano oceny stanu neurologicznego oraz przeprowadzono diagnostykę obrazową. U trzech chorych stwierdzono ograniczoną postać nowotworu.

Wyniki: Najczęściej zmiany szpiczakowi występowały w odcinku piersiowym kręgosłupa – 14 chorych, szyjnym i lędźwiowym odpowiednio u 5 i 4 chorych (u jednego chorego zmiany obecne były zarówno w odcinku piersiowym, jak i szyjnym). U większości (14) wykonano laminektomię, przy czym u 5 z jednoczesną stabilizacją, natomiast u 2 z wertebroplastyką cementem. W jednym przypadku przeprowadzono biopsję guza. Inne przeprowadzone zabiegi to kostotranwersektomia i korpektomia. U 20 chorych stwierdzono poprawę, a u 2 stabilizację stanu neurologicznego. U żadnego chorego nie nastąpiło pogorszenie. W dwóch przypadkach przeprowadzono powtórny zabieg operacyjny.

Wnioski: Leczenie chirurgiczne jest jednym z elementów całościowego planu terapeutycznego, w którym najważniejszą rolę odgrywa chemio- i radioterapia. Jego celem nie jest radykalne wyleczenie MM, lecz niejednokrotnie istotne zmniejszenie dolegliwości bólowych oraz często groźnych powikłań neurologicznych. Chociaż w chwili obecnej nie dysponujemy niezbitymi dowodami, że wpływa na wydłużenie całkowitego czasu przeżycia, to bez wątpienia niejednokrotnie w istotny sposób poprawia jego jakość.

P11. STĘŻENIE I AKTYWNOŚĆ CHYMOTRYPSYNOPODOBNA (CHT-L) PROTEASOMU 20S W OSOCZU I SUROWICY CHORYCH NA SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO

mgr Wioletta Romaniuk¹, dr Joanna Kalita²,
prof. Halina Ostrowska², prof. Janusz Kłoczko¹

¹Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

²Zakład Biologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Wstęp: Proteasomy to wieloenzymatyczne kompleksy odgrywające kluczową rolę w wewnątrzkomórkowej degradacji białek. U osób zdrowych występują w małym stężeniu, a ich poziom rośnie w przebiegu wielu chorób nowotworowych, m.in. szpiczaka plazmocytozowego.

Cel: Porównanie stężenia i aktywności proteasomu 20S w osoczu i surowicy osób zdrowych oraz chorych na szpiczaka plazmocytozowego, co pozwoli na wskazanie optymalnego materiału do oznaczeń.

Materiał i metody: Materiał do badań stanowiło 70 próbek osocza i surowicy otrzymanych od 28 chorych na szpiczaka plazmocytozowego na różnym etapie leczenia oraz 32 zdrowych ochotników. Stężenie proteasomów oznaczano metodą immunoenzymatyczną, natomiast aktywność ChT-L była oznaczana przy użyciu fluorogenego substratu Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC w obecności SDS, jako selektywnego aktywatora enzymu ChT-L.

Wyniki: Mediana stężenia proteasomów w grupie osób zdrowych była wyższa w osoczu niż w surowicy, ale różnica nie była istotna statystycznie ($p = 0,445$). Podobna zależność wystąpiła w przypadku aktywności ChT-L proteasomu między badanymi materiałami ($p = 0,126$). W grupie chorych na szpiczaka plazmocytozowego mediana stężenia proteasomu w osoczu była znacznie wyższa w porównaniu z wartością mediany w surowicy ($p = 0,000016$). Zaobserwowano również znacznie wyższą aktywność ChT-L proteasomu w osoczu niż w surowicy ($p = 0,000004$). Przeprowadzona analiza korelacji wykazała dodatnią i istotną statystycznie zależność między stężeniem proteasomów w osoczu a w surowicy ($p < 0,01$) oraz między aktywnością ChT-L w osoczu a w surowicy ($p < 0,01$). Analiza korelacji stężenia i aktywności proteasomu w obu ma-

teriałach z czynnikami prognostycznymi u chorych na szpiczaka plazmocytozowego wykazała istotną zależność między stężeniem proteasomów w osoczu a stężeniem białka całkowitego ($p = 0,006$), kreatyniny ($p = 0,008$), wapnia ($p < 0,01$), β_2 -M ($p < 0,01$) i aktywnością LDH ($p < 0,01$), przy czym w surowicy tylko z aktywnością LDH ($p < 0,01$). Aktywność ChT-L proteasomu w osoczu korelowała istotnie statystycznie ze stężeniem β_2 -M ($p = 0,003$), wapnia ($p = 0,001$) i aktywnością LDH ($p < 0,01$), podczas gdy w surowicy znamienne korelacje wystąpiły ze stężeniem albuminy ($p = 0,005$) i β_2 -M ($p = 0,023$) oraz aktywnością LDH ($p = 0,005$).

Wnioski: Wyższe wartości stężenia proteasomów i aktywności ChT-L w osoczu niż w surowicy i ich lepsze korelacje z parametrami prognostycznymi u chorych na szpiczaka wskazują, że osocze stanowi lepszy materiał biologiczny do pomiaru stężenia i aktywności ChT-L proteasomu u pacjentów ze szpiczakiem plazmocytozowym.

P12. ZATRZYMANIE MOCZU JAKO OBJAW NEUROPATII AUTONOMICZNEJ U 54-LETNIEGO MĘŻCZYZNY LECZONEGO Z POWODU SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO CHEMIOTERAPIĄ VTD

dr Dariusz Woszczyk, lek. Jędrzej Grad,
lek. Jędrzej Grad, lek. Katarzyna Kościów,
dr Marcin Wójtowicz, lek. Agnieszka Kozak

Oddział Hematologii i Onkologii Hematologicznej, Szpital
Wojewódzki w Opolu

Pacjent, 54 lata, diagnozowany w październiku 2014 r. z powodu wysokiego OB. W badaniach: nieco wyższe stężenie PSA, wysokie stężenie IgA, niedobór IgG i IgM, obecne białko monoklonalne oraz albuminuria. W rozmazie szpiku kostnego 37,8% plazmocytozów. W RTG bez zmian osteolitycznych. W badaniu FISH szpiku kostnego nie wykazano fuzji FGFR3/IGH, IGH i IGH/MAF oraz delekcji genu TP53. Chory zakwalifikowany do ambulatoryjnej obserwacji. Wobec pogłębiającej się niedokrwistości i narastającego białkomoczu w dniu 30 stycznia 2015 r. z rozpoznaniem szpiczaka plazmocytozowego zakwalifikowany do leczenia VTD (stadium zaawansowania choroby wg Durie-Salmon IIA, ISS 1). Po 3. cyklu leczenia stwierdzono co najmniej VGPR. Po 4. cyklach i 1 dawce bortezomibu w 5. cyklu leczenie przerwano z uwagi na zatrzymanie moczu. Pacjent zacewnikowany 10 maja 2015 r. Pierwsza próba usunięcia cewnika po 2 dniach nieudana, nie uzyskano diurezy. W terapii zastosowano tamsulozynę. Zatrzymaniu moczu nie towarzyszyły inne objawy neuropatii autonomicznej oraz polineuropatii czuciowo-ruchowej pomimo nieprawidłowego wyniku badania EMG kończyn dolnych. Wobec podejrzenia uszkodzenia włókien autonomicznych po talidomidzie i bortezomibie, przy dobrej odpowiedzi na leczenie, zde-

cydowano o zakończeniu terapii VTD. W dniu 8 czerwca 2015 r. usunięto cewnik z pęcherza moczowego. Od tego czasu diureza spontaniczna, chory nie miał objawów dyzurycznych. W kontrolnym USG pęcherz po mikcji zawierał niewielką ilość moczu. Z tego względu konsultujący urolog nie wykonywał badania urodynamicznego. Gruczoł krokowy o wymiarach 41 x 40 x 44 mm, nieznacznie powiększony, jednorodny, o pogrubiałej torebce. W badaniach hematologicznych utrzymywało się VGPR, pacjent zakwalifikowany do procedury auto-PBSCT, którą przeprowadzono w dniu 3 marca 2016 r. Po przeszczepie stwierdzono CR, która utrzymuje się do chwili obecnej. Przypadek ten zwraca uwagę na możliwość wystąpienia polekowej, izolowanej, ograniczonej tylko do pęcherza moczowego neuropatii autonomicznej u mężczyzny, u którego zaburzenia w oddawaniu moczu można kojarzyć z wiekiem i przerostem prostaty, a nie z toksycznością polekową. Odstawienie leku przywróciło funkcję pęcherza, najprawdopodobniej chroniąc pacjenta przed trwałą dysfunkcją narządu i koniecznością stałego cewnikowania. Częstość tego powikłania jest nieznana, doniesienia w piśmiennictwie nieliczne. Należy przypuszczać, że jest to wynik mylnego kwalifikowania zaburzeń mikcji u starszych mężczyzn leczonych z powodu szpiczaka.

P13. SKUTECZNOŚĆ I BEZPIECZEŃSTWO WYSOKODAWKOWANEJ CHEMIOTERAPII WSPOMAGANEJ PRZESZCZEPIENIEM AUTOLOGICZNYCH KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH UZYSKANYCH W WYNIKU MOBILIZACJI MACIERZYSTYCH KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH PRZEPROWADZONEJ PO WCZEŚNIEJSZEJ CHEMIOTERAPII MIELOABLACYJNEJ U CHORYCH NA SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO – ANALIZA WIELOOŚRODKOWA POLSKIEJ GRUPY SZPICZAKOWEJ

dr n. med. Joanna Drozd-Sokołowska¹,
dr Anna Waszczuk-Gajda¹, dr Joanna Mańko²,
prof. Iwona Hus³, dr hab. Anna Szmigielska-Kapłon⁴,
dr Mateusz Nowicki⁴, dr Joanna Romejko-Jarosińska⁵,
prof. Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek¹

¹Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku,
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Samodzielna Pracownia Transplantologii Klinicznej,
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁴Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

⁵Klinika Nowotworów Układu Chłonnego, Centrum Onkologii
– Instytut w Warszawie

Wstęp: Podanie wysokodawkowanej chemioterapii wspomaganej przeszczepieniem własnych komórek krwiotwórczych (HCT) jest standardem postępowania u chorych na szpiczaka plazmocytozy. Pomimo coraz większej dostępności nowych cząstek często pojawia się konieczność ponownego sięgnięcia po tę metodę u chorych po wcześniejszym HCT. O ile nie zgromadzo no wystarczającej liczby komórek macierzystych (SC) przed pierwszym HCT, konieczna jest ponowna mobilizacja SC u chorych eksponowanych wcześniej na mieloablacyjne dawki cytostatyków. Bezpieczeństwo i skuteczność przeszczepienia z zastosowaniem takich SC są mało zbadane.

Cel: Analiza skuteczności i bezpieczeństwa HCT z wykorzystaniem komórek macierzystych zmobilizowanych po wcześniejszym HCT.

Materiał i metody: Analizę retrospektywną objęto 32 chorych na szpiczaka, 19 mężczyzn, z medianą wieku 61 lat (38–68) w momencie HCT. Dwudziestu siedmiu chorych było po 1, 5 chorych po 2 HCT. Mediana czasu od ostatniego HCT do analizowanego HCT wynosiła 4,1 roku (1,4–11).

Wyniki: Dwunastu chorych otrzymało kondycjonowanie wg protokołu MEL200, 12 wg MEL140, 2 wg MEL100, 2 wg BuMEL. Jeden chory był poddany przeszczepieniu tandemowemu. Łącznie przetoczono $4,25 \times 10^6$ komórek CD34+/kg m.c. (1,34–12,44). U 3 chorych wykorzystano dodatkowo komórki uzyskane przed pierwszym HCT. U wszystkich uzyskano wszczepienie (u 1 chorego dopiero po doszczepieniu), regenerację hematopoetyczną stwierdzano: ANC > 0,5 tys./ μ l – w 13. dobie (9–25), PLT > 20 tys./ μ l – w 14. dobie (9–47). Jedenastu chorych wymagało przetoczenia koncentratu krwinek czerwonych, 29 chorych – koncentratu krwinek płytkowych. Poza toksycznością hematologiczną obserwowano głównie powikłania infekcyjne – u 6 chorych wystąpiła gorączka neutropeniczna, u 5 posocznica, u 1 zapalenie płuc, u 1 zapalenie tkanek miękkich. Nie obserwowano zgonów związanych z procedurą. Przy medianie obserwacji chorych żyjących wynoszącej 1 rok nie obserwowano rozwoju MDS, AML i drugih nowotworów. Dwuletnie przeżycie całkowite wynosiło 77% (95% CI: 47–91), 2-letnie przeżycie wolne od progresji 68% (95% CI: 42–84).

Wnioski: HCT wykonane z wykorzystaniem komórek macierzystych zmobilizowanych po wcześniejszej mieloablacyjnej chemioterapii pozwala na uzyskanie zadowalających wyników. Wiąże się z przewidywalną toksycznością. Nie stwierdzono rozwoju MDS, AML i drugih nowotworów. Konieczne jest dłuższa obserwacja w celu oceny powikłań odległych.

P14. OCENA SKUTECZNOŚCI I BEZPIECZEŃSTWA LECZENIA BENDAMUSTYNĄ W SKOJARZENIU Z LENALIDOMIDEM I DEKSAMETAZONEM (BRD) CHORYCH NA NAWROTOWEGO/OPORNEGO SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO – JEDNOOŚRODKOWA ANALIZA RETROSPEKTYWNA

dr Grzegorz Charliński¹, lek. Weronika Piszczek¹, lek. Dominik Chraniuk¹, lek. Maria Czyżewska¹, lek. Justyna Gajkowska-Kulik¹, lek. Aleksandra Kostyra¹, lek. Marcin Rymko¹, lek. Magdalena Szczepańska¹, lek. Dominika Wiśniewska-Organek¹, dr Elżbieta Wiater¹, dr Edyta Cichocka¹, dr Małgorzata Całbecka²

¹Oddział Hematologii, Specjalistyczny Szpital Miejski im. M. Kopernika w Toruniu

²Bank Krwiotwórczych Komórek Macierzystych, Specjalistyczny Szpital Miejski im. M. Kopernika w Toruniu

Wstęp: Szpiczak plazmocytozy (SzP) ma heterogenny przebieg i stwierdza się nawroty. W terapii nawrotowego/opornego (n/o) SzP w Polsce stosuje się talidomid, lenalidomid (Len), bortezomib i bendamustynę (Benda).

Cel: Ocena skuteczności leczenia wg kryteriów IMWG, całkowitego przeżycia (OS), przeżycia wolnego od progresji (PFS) i bezpieczeństwa leczenia n/o SzP protokołem BRD.

Materiał i metody: W terapii n/o SzP stosowano protokół BRD, tj. Benda: 60–75 mg/m² i.v., 1 i 2 d., Len: 25 mg p.o. 1-21 d., deksametazon: 20–40 mg, 1-4 d. (w pierwszych czterech cyklach dodatkowo w dniach 9–12 i 17–20) cyklu. Analizę statystyczną wykonano przy pomocy programu Statistica w.13.1. z użyciem testu log-rank.

Wyniki: Analizie retrospektywnej poddano 28 (17 mężczyzn) chorych na n/o SzP w wieku 50–76 (mediana: 62,5) lat leczonych protokołem BRD. Liczba poprzedzających linii leczenia: 1–8 (mediana: 2). U 18 (64%) chorych rozpoznano SzP typu IgG, u 9 (32%) IgA i u 1 (4%) chorobę łańcuchów lekkich. U 5 (18%) chorych rozpoznano SzP w CS IA wg D-S, u 7 (25%): IIA i u 16 (57%): III (w tym 1: IIIB). ISS-1: 12 (43%), ISS-2: 11 (39%) i ISS-3: 5 (18%) chorych. Zastosowano 2–9 (mediana: 6) 28-dniowych cykli BRD. Odpowiedź na leczenie stwierdzono u 16 (57%) chorych, w tym u 3 (10,5%): CR, u 13 (46,5%): PR. U 3 (10,7%): SD i 9 (32%) chorych PD. U 3 (75%) chorych stwierdzono CR pozaszpikowego nacieku n/o SzP. Mediana OS i PFS wyniosła odpowiednio 12,5 i 9 miesięcy. W zależności od uzyskanej odpowiedzi (> PR vs < PR) mediana OS wyniosła odpowiednio: 14 i 12,5 miesiąca ($p = 0,42$), a mediana PFS, odpowiednio 12 i 7 miesięcy ($p = 0,011$). W zależności od wieku (< 65 vs > 65 lat) mediana OS wyniosła odpowiednio 31

i 17 miesięcy ($p = 0,56$), a mediana PFS odpowiednio 7 i 13 miesięcy ($p = 0,036$). W zależności od poprzedzających BRD, linii leczenia (≤ 3 vs > 3 linie) mediana OS wyniosła odpowiednio 48 i 12 miesięcy ($p = 0,006$), a mediana PFS: 18 vs 8 miesięcy ($p = 0,09$). U 21 (75%) chorych stwierdzono hematologiczne działania niepożądane (AE). Obecność poważnych (3° i 4° wg CTC) hematologicznych AE stwierdzono u 16 (57%) chorych, w tym u 16 (57%) neutropenię, u 6 (21,5%) małopłytkowość, u 4 (14%) niedokrwistość. 73% poważnych hematologicznych AE wystąpiła w pierwszych 3 cyklach BRD. U 10 (35,7%) chorych wystąpiły niehematologiczne AE, w tym u 6 (21,4%) poważne (3° i 4° wg CTC). Najczęściej było to zapalenie płuc [3 (10,7%) chorych].

Wnioski: Protokół BRD jest skutecznym sposobem leczenia n/o SzP przy akceptowalnych działaniach niepożądanych.

P15. OCENA SKUTECZNOŚCI I BEZPIECZEŃSTWA LECZENIA PROTOKOŁEM VCD (BORTEZOMIB, CYKLOFOSFAMID, DEKSAMETAZON) CHORYCH NA NOWO ROZPOZNANEGO OBJAWOWEGO SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO – RAPORT POLSKIEJ GRUPY SZPICZAKOWEJ

dr Grzegorz Charliński¹, dr hab. Norbert Grząsko²,
dr hab. Łukasz Bołkun³, Kamil Wiśniewski⁴,
dr Magdalena Glazer-Stefańska⁵, Małgorzata Rażny⁶,
Alina Urbanowicz⁷, dr Elżbieta Wiater¹,
prof. Anna Dmoszyńska⁸

¹Oddział Hematologii, Specjalistyczny Szpital Miejski im. M. Kopernika w Toruniu

²Oddział Hematologii, Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej w Lublinie

³Klinika Hematologii, Uniwersytecki Szpital Kliniczny w Białymstoku

⁴Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁵Klinika Hematologii, Kliniczny Szpital Wojewódzki im. Chopina w Rzeszowie

⁶Oddział Hematologii i Chorób Wewnętrznych, Szpital Specjalistyczny im. Rydygiera w Krakowie

⁷Oddział Onkologii Klinicznej i Hematologii, Szpital Wojewódzki im. Rydygiera w Suwałkach

⁸Samodzielna Pracownia Transplantologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Skuteczność leczenia protokołem VCD nowo rozpoznanego SzP w randomizowanych badaniach klinicznych jest bardzo wysoka. Istotne wydaje się dokonanie oceny zarówno skuteczności, jak i bezpieczeństwa leczenia w grupie niselekcjonowanych chorych na SzP.

Cel: Ocena skuteczności leczenia wg kryteriów IMWG, całkowitego przeżycia (OS), przeżycia wolnego od progresji (PFS) i bezpieczeństwa leczenia protokołem VCD nowo rozpoznanych chorych na SzP.

Materiał i metody: W leczeniu 1. linii objawowego SzP zastosowano leczenie wg protokołu VCD, tj. bortezomib: 1,3 mg/m² s.c. lub i.v., 1., 4., 8., 11. d, cyklofosfamid: 500 mg/m² i.v. 1. d lub 250 mg p.o. 1.-4. d, deksametazon 20–40 mg, 1.–4. d. Cykle 21- lub 28-dniowe. Analizę statystyczną wykonano za pomocą programu Statistica w.13.1. z użyciem testu log-rank.

Wyniki: Analizie retrospektywnej poddano 40 (19 mężczyzn) chorych na nowo rozpoznanego, objawowego SzP w wieku 47–75 (mediana: 60,5) lat, u których zastosowano 3–9 (mediana: 6) cykli VCD. Jedenaście (27,5%) chorych poddano następowemu auto-SCT. Mediana obserwacji: 10 (zakres: 4–21) miesięcy. Szp IgG rozpoznano u 27 (67,5%) chorych, IgA: 7 (17,5%), IgD: 1 (2,5%) i chorobę łańcuchów lekkich u 5 (12,5%) chorych. SzP w stadium ISS-1 rozpoznano u 10 (25%) chorych, ISS-2: 7 (17,5%) i ISS-3: 23 (57,5%) chorych. U 32 (80%) chorych stosowano 21-dniowy, a u 8 (20%) chorych 28-dniowy protokół VCD. Oceny skuteczności leczenia dokonano u 38 chorych. Odpowiedź na leczenie stwierdzono u 34 (89%) chorych, w tym CR u 6 (15,5%) chorych, VGPR u 15 (39,5%), PR u 13 (34%). Wszyscy chorzy żyją. Mediana PFS: 19 miesięcy. W zależności od uzyskanej odpowiedzi $> VGPR$ vs $< VGPR$ mediana PFS wyniosła odpowiednio: 27,9 i 12 miesięcy ($p = 0,09$). 12-miesięczny PFS w grupie chorych poddanych i niepoddanych następowemu auto-SCT wyniósł odpowiednio: 100% vs 61% ($p = 0,063$). U 18 (45%) chorych stwierdzono hematologiczne działania niepożądane, w tym poważne ($3/4^{\circ}$ wg CTC AE) u 6 (15%) chorych. Najczęściej była to neutropenia (6 chorych, w tym $3/4^{\circ}$ wg CTC AE u 3 chorych), małopłytkowość (5 chorych, w tym $3/4^{\circ}$ wg CTC AE u 3 chorych) i neutropenia (1 chory). U 14 (35%) chorych stwierdzono polineuropatię obwodową (w tym u 5 (12,5%) chorych w 3° wg CTC AE), u 3 (7,5%) chorych zakażenia (w tym u 2 chorych zapalenie płuc), u 2 (5%) chorych uszkodzenie komórki wątrobowej i u 1 (2,5%) chorego zakrzepicę żylną.

Wnioski: Protokół VCD stosowany w 1. linii jest skutecznym i bezpiecznym sposobem leczenia chorych na SzP zarówno kwalifikowanych, jak i niekwalifikowanych do ASCT.

P16. ZNACZENIE FUNKCJI WYBRANYCH ELEMENTÓW PODŚCIELISKA SZPIKU KOSTNEGO DLA WYNIKÓW LECZENIA CHORYCH NA SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO. PROSPEKTYWNE BADANIE JEDNOOŚRODKOWE – DONIESIENIE WSTĘPNE

Agnieszka Barchnicka¹,
Małgorzata Olejniczak-Nowakowska²,
Karolina Krupa-Kotara², Jacek Pająk³,
Aleksandra Kuźbińska³, Piotr Gregorczyk⁴,
Katarzyna Borg⁵, Ewa Bodzenta⁶, Marcin Fejklowicz⁶,
Aleksandra Melisz⁶, Maja Twardosz⁶,
Ilona Szypuła-Perkosz⁶, Zofia Spyra⁶, Marek Kriegl⁶,
Piotr Małecki⁶, Katarzyna Smolarz⁷,
Magdalena Lizura⁷, Grażyna Kmiecik⁷,
Sebastian Grosicki²

¹Studium Doktoranckie, Zakład Profilaktyki Chorób Nowotworowych, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

²Zakład Profilaktyki Chorób Nowotworowych, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

³Katedra i Zakład Patomorfologii, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁴Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Profilaktyki Chorób Nowotworowych, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁵Pracownia Genetyki, Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁶Oddział Hematologiczny, SPZOZ ZSM w Chorzowie

⁷Laboratorium Analityczne, SPZOZ ZSM w Chorzowie

Wstęp: Ekspansja szpiczaka plazmocytozowego (MM) jest ściśle związana z podporządkowaniem sobie macierzy szpiku kostnego przez nowotworowo zmienione plazmocyty. Kontakt patologicznego plazmocyty z komórkami podścieliska stymuluje je do zwiększonego wydzielania cytokin prozapalnych oraz proangiogenicznych, zapewniając sobie właściwe warunki. Dotychczasowe badania wykazały, że angiogeneza może mieć związek z biologią MM, ale także rokowaniem chorych.

Cel: Celem pracy jest ocena korelacji stopnia nasilenia angiogenezy, włóknienia szpiku i aktywności mastocytów w szpiku kostnym ocenianych histopatologicznie oraz stężenia białek związanych z aktywnością szpiku kostnego (VEGF-A, VEGF-C, Endogliny, FLT3ligand, VEGF-B i FGF2) ze stopniem zaawansowania i wynikami leczenia chorych na MM.

Materiał i metody: Planuje się włączyć do badania 40 chorych na nieleczzonego MM. Materiałem jest trepanobiopsat szpiku kostnego oraz próbki krwi obwodowej. Materiał jest pobierany przed leczeniem, a następnie po pierwszej linii leczenia. Angiogeneza w szpiku kostnym jest oceniana metodą pomiaru gęstości mikronaczyń (MVD) z wykorzystaniem barwień na CD34+. Aktywność mastocytów oceniano z wykorzystaniem

barwień na CD117+. Stężenia białek są oznaczane metodą immunoenzymatyczną ELISA.

Wyniki i wnioski: Do badania włączono dotychczas 38 chorych na MM: 21 mężczyzn (55%) oraz 17 kobiet (45%); mediana wieku 68 lat (31–83); ISS-3 (54%), ISS-2 (32,5%), ISS-1 (13,5%); cytogenetyka: defekty genów TP53, ATM (15,8%), rearanżacja IGH (21,05%), gen fuzyjny IGH-FGFR3 (5,26%). W ramach chemioterapii pierwszoliniowej podano: CVD u 33 chorych (86,8%), VD u 2 (5,2%) i CTD u 3 (8%). Przed leczeniem stężenie VEGF-A wyniosło średnio 90,68 pg/ml (15,36–694,12), a po leczeniu 78,25 pg/ml (33,74–251,68); stężenie VEGF-B przed leczeniem 6,59 pg/ml (0,411–71,99), VEGF-B po leczeniu 4,195 pg/ml (0,35–9,56 pg/ml); VEGF-C przed leczeniem 1,086 ng/ml (0,001–8,452), VEGF-C po leczeniu 0,817 ng/ml (0,003–3,073); endogliny przed leczeniem 2,28 ng/ml (0,596–3,871), endogliny po leczeniu 2,105 ng/ml (1,502–2,777); FGF-2 przed leczeniem 274,73 ng/ml (51,58–650,16), FGF-2 po leczeniu 274,26 ng/ml (30,18–788,77). Dotychczas u 12 chorych wykonano ocenę MVD oraz mastocytów przed i po leczeniu. Średnie MVD przed leczeniem wynosiło 5,38, a po 5,6. Średnia liczba mastocytów przed leczeniem i po leczeniu – 0,36. Badania są w toku. Korelacje z wynikami i zaawansowaniem choroby zostaną przedstawione w czasie prezentacji na Zjeździe PTHiT.

P17. OCENA BÓLU CHORYCH Z ROZPOZNANYM SZPICZAKIEM MNOGIM

dr n. med Eleonora Mess,
prof. dr hab. n. med. Lidia Usnarska-Zubkiewicz,
student 6. roku, kierunek lekarski Maciej Ornat

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wstęp: Szpiczak mnogi jest chorobą dotyczącą ludzi dorosłych. Najczęściej zachorowalność przypada na ostatnią dekadę życia po 50. roku życia. Objawy kliniczne koncentrują się powszechnie na osłabieniu wraz ze stałym zmęczeniem. Objawem zmuszającym chorego do kontroli lekarskiej jest ból. Podczas wnikliwej oceny bólu i za pomocą badań obrazowych rozpoznawany jest na pierwszym miejscu ból kostny, zlokalizowany w różnych miejscach i o różnym natężeniu. Ból i zmiany, jakie zachodzą w organizmie, doprowadzają w dalszym etapie do np. złamań patologicznych kości i wiążą się z powikłanym procesem leczenia złamań kości. Długo trwający ból powoduje wyczerpanie sił fizycznych, utrudnia aktywność fizyczną – ruch, powstaje lęk jako stan, ogólny niepokój, zaburzenie funkcji poznawczych, stany depresyjne.

Cel: Celem pracy było określenie na ciele chorego miejsc występowania bólu, natężenia bólu, charakteru i rodzaju bólu.

Materiał i metody: Badanie chorych przeprowadzono w Klinice Hematologii i Transplantologii we Wrocławiu. Badaniu poddanych zostało 60 chorych z rozpoznaniem szpiczakiem mnogim (MM). W otwartym badaniu ankietowym przebadano 60 chorych z rozpoznaniem szpiczaka mnogiego. Badanie wykonano na Oddziale Kliniki Hematologii i w przychodni Kliniki Hematologii. Do badań wykorzystano kwestionariusz ESAS-r i Krótki Inwentarz Bólu (*Brief Pain Inventory – Short Form*), Skalę VAS i Mapę Bólu Człowieka.

Wyniki: Miejscem najczęściej wskazywanym na ciele był ból kręgosłupa, miednicy, kończyn górnych i dolnych. Natężenie bólu u badanych określone było na poziomie średnim oscylującym do wysokiego. Natężenie bólu zależne było od pory dnia. Aktywność fizyczna miała wpływ na natężenie bólu. Natężenie bólu zależne było od stanu emocjonalnego. Chorzy z określonym złym samopoczuciem mieli ból na poziomie wysokim. Zaburzenia snu, zmęczenie miało wpływ na poziom bólu.

Wnioski: Chorzy z rozpoznaniem szpiczakiem mnogim zmagają się z wysokim poziomem bólu. Natężenie bólu zależy od przebiegu leczenia, ogólnego samopoczucia, stanu emocjonalnego, aktywności fizycznej.

P18. OCENA STANU EMOCJONALNEGO CHORYCH Z ROZPOZNANYM SZPICZAKIEM MNOGIM

dr n. med. Eleonora Mess,
prof. dr hab. n. med. Lidia Usnarska-Zubkiewicz,
student 6. roku, kierunek lekarski Maciej Ornat,
lek. Piotr Śielski

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wstęp: Szpiczak mnogi jest chorobą dotyczącą ludzi dorosłych. Najczęściej zachorowalność przypada na ostatnią dekadę życia po 50. roku życia. Objawy kliniczne koncentrują się powszechnie na osłabieniu wraz ze stałym zmęczeniem. W szczegółowej diagnostyce hematologicznej typowe jest rozpoznanie zmniejszenia skuteczności układu odpornościowego w eliminowaniu prekursorów komórek szpiczakowych. W diagnostyce specjalistycznej laboratoryjnej na oddziałach hematologicznych rozpoznawany jest szpiczak mnogi. Postawiona diagnoza przez lekarza hematologa zmusza go dla dobra pacjenta do podjęcia interdyscyplinarnego leczenia. Rozpoznanie choroby nowotworowej, wskazanie metod leczenia powoduje niepokój o różnicowanym przebiegu. Długotrwały przebieg leczenia powoduje lęk i cechy depresji.

Cel: Celem pracy była ocena stanu emocjonalnego chorych z rozpoznaniem szpiczakiem mnogim.

Materiał i metody: Badanie chorych przeprowadzono w Klinice Hematologii i Transplantologii we Wro-

clawiu. W otwartym badaniu ankietowym przebadano 60 chorych z rozpoznaniem szpiczaka mnogiego (MM). Badanie wykonano na Oddziale Kliniki Hematologii i w przychodni Kliniki Hematologii. Do badań wykorzystano kwestionariusz do oceny stanu psychicznego – lęku i depresji – skala HADS, depresji – Zunga, MMSE (*Mini-Mental State Examination*), a do oceny aktywności fizycznej skalę Karnofsky'ego.

Wyniki i wnioski: Badani chorzy oprócz leczenia podstawowej jednostki chorobowej – szpiczaka mnogiego – wymagają wsparcia emocjonalnego. Wykazany lęk, depresja u 100% badanych wymaga wsparcia psychoonkologa. Cechy zmęczenia, przygnębienia, zaburzenia snu mają wpływ na koncentrację i pamięć.

P19. WPŁYW TALIDOMIDU, LENALIDOMIDU ORAZ BORTEZOMIBU NA PROCESY NEUROGENEZY ORAZ PROLIFERACJI

mgr Karolina Łuczowska, mgr Dorota Rogińska,
dr Przemysław Ustianowski,
dr hab. Edyta Paczkowska,
prof. dr hab. Bogusław Machaliński

Zakład Patologii Ogólnej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Wstęp: Szeroko stosowane w leczeniu szpiczaka mnogiego leki immunomodulujące, tj. talidomid i jego nowszy analog lenalidomid oraz inhibitor proteasomu – bortezomib, mogą w swoim profilu działań niepożądanych wywoływać polineuropatię obwodową (PN), której mechanizm powstawania nie został poznany. Jedną z potencjalnych przyczyn mogą być zmiany w sekrecji neurotrofin oraz zaburzenia ekspresji genów związanych z procesami neurogenezy i neuroprotekcji.

Cel: Celem badania była ocena wpływu talidomidu, bortezomibu oraz lenalidomidu na procesy proliferacji oraz neurogenezy w heterogennej populacji komórek macierzystych/progenitorowych liniowo negatywnych.

Materiał i metody: Komórki macierzyste/progenitorowe liniowo-negatywne [Lin-] wyodrębniono z krwi pępowinowej ($n = 5$) metodą immunomagnetyczną, wykorzystując zestaw Lineage Cell Depletion Kit [Miltenyi Biotec]. Uzyskaną populację komórkową poddano następnie inkubacji z talidomidem (50 $\mu\text{g/ml}$), lenalidomidem (10 $\mu\text{mol/l}$), bortezomibem (50 nM/l) przez 24 godziny w warunkach bezsurowiczych. Następnie z komórek wyizolowano RNA oraz miRNA (mirVana miRNA Isolation Kit; Thermo Fisher Scientific). Zgromadzony materiał genetyczny poddano globalnej ocenie ekspresji genów oraz cząsteczek miRNA, wykorzystując metodę mikromacierzy genomowych (Affymetrix-WTArray Strip; Affymetrix miRNA4.1Array Strip).

Wyniki: Analiza ekspresji genów komórek Lin- po inkubacji z bortezomibem wykazała zmienność 322 genów (*fold change* > 2) względem kontroli, z talidomidem 26 genów, z lenalidomidem 399 genów. Szczegółowa ocena wybranych genów wykazała istotny ($p < 0,05$) spadek ekspresji genów zaangażowanych w procesy proliferacji (m.in. PLAC8; DEFA4; CHI3L1) oraz neurogenezy (m.in. ARPC3; GPI; NREP; CREB1; NPTN; VEGFB; TGFB1). Analiza ekspresji miRNA wykazała po inkubacji z bortezomibem zmienność 67 miRNAs (*fold change* > 2), z talidomidem 62 miRNAs, z lenalidomidem 60 miRNAs. Zaobserwowano istotny spadek ekspresji miRNAs zaangażowanych w procesy neurogenezy (m.in. miR-941; miR-92a-1; miR-410, miR-132; miR-140; miR-664b).

Wnioski: Oceniane w tym eksperymencie leki mogą obniżać potencjał proliferacyjny komórek macierzystych/progenitorowych, które konstytutywnie uwalniają substancje o działaniu neuroprotektoryjnym, neuroregeneracyjnym oraz uczestniczą w utrzymywaniu homeostazy układu nerwowego. Dodatkowo zmiany ekspresji genów oraz miRNA regulujących neurogenezę sugerują negatywny wpływ badanych leków na ten proces.

P20. ROLA NEUROTROFIN I CZYNNIKÓW ANGIOGENNYCH W PATOFIZJOLOGII NEUROPATII OBWODOWEJ U CHORYCH W PRZEBIEGU SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO

mgr Karolina Łuczowska¹, mgr Zofia Litwińska¹,
dr Ewa Pius-Sadowska¹, mgr Anna Sobuś¹,
dr hab. Edyta Paczkowska¹,
prof. dr hab. Grzegorz Helbig²,
prof. dr hab. Bogusław Machaliński¹

¹Zakład Patologii Ogólnej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

²Katedra i Oddział Hematologii i Transplantacji Szpiku, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Wstęp: Szpiczak plazmocytowy (MM) stanowi drugą najczęściej występującą chorobę nowotworową układu limfoidalnego u dorosłych. W ostatniej dekadzie długość życia pacjentów uległa znacznemu wydłużeniu dzięki wprowadzeniu nowych leków i schematów terapeutycznych. Jednak zastosowanie m.in. talidomidu czy bortezomibu w terapii MM spowodowało wystąpienie istotnego problemu terapeutycznego, jakim są polineuropatie obwodowe (PN) będące jednym z najpoważniejszych działań ubocznych tych leków. Mechanizm rozwoju PN indukowanej leczeniem jest słabo poznany. Jedną z potencjalnych przyczyn zaburzeń homeostazy układu nerwowego może być obniżenie stężenia kluczowych czynników troficznych, w tym czynników neurotroficznych i/lub angiogennych, które

są odpowiedzialne za proliferację, różnicowanie, przeżycie i śmierć komórek nerwowych.

Cel: Celem badania była ocena potencjalnych zależności pomiędzy stężeniem neurotrofin i czynników angiogennych a rozwojem PN indukowanej jatrogennie lekami, których zastosowanie może powodować wystąpienie PN.

Materiał i metody: Krew obwodowa była pobierana od pacjentów zakwalifikowanych do dwóch grup badawczych: i) pacjenci z rozpoznaniem MM, bez neuropatii przed leczeniem ($n = 10$); ii) pacjenci po leczeniu schematem VMP lub VTD, u których w trakcie terapii wystąpiła neuropatia 3. stopnia lub 4. stopnia ($n = 5$), oraz od zdrowych osób, które stanowiły grupę kontrolną ($n = 10$). Analiza stężenia wybranych czynników (BDNF, PDGF, NSE) została wykonana przy zastosowaniu technologii Luminex. Do pomiaru stężenia wykorzystano komercyjne zestawy Kit Human Neurodegenerative Disease Panel 3,2 oraz Human Neurological Disorders 1,2 (MerckMillipore).

Wyniki: Uzyskane wyniki wykazały istotny spadek stężenia BDNF, PDGF, NSE w osoczu pacjentów z MM w trakcie leczenia schematem VMP lub VTD, u których pojawiły się objawy neuropatii 3. stopnia lub 4. stopnia w porównaniu z pacjentami przed leczeniem, bez neuropatii oraz grupą kontrolną, którą stanowili zdrowi pacjenci po 60. roku życia. Ponadto zaobserwowano wzrost stężenia badanych czynników u pacjentów ze świeżo zdiagnozowanym MM w porównaniu z grupą kontrolną.

Wnioski: Wstępne wyniki badań sugerują wpływ zmieniającego się stężenia neurotrofin na rozwój neuropatii obwodowej w przebiegu leczenia MM. W związku z tym planowana jest próba dalszych badań w tym obszarze obejmująca większą grupę pacjentów oraz badania na poziomie molekularnym, które pomogą wyjaśnić patomechanizm rozwoju PN.

P21. DARATUMUMAB W MONOTERAPII W LECZENIU CHORYCH Z OPORNYM LUB NAWROTOWYM SZPICZAKIEM PLAZMOCYTOWYM W CODZIENNEJ PRAKTYCE KLINICZNEJ – BADANIE OBSERWACYJNE POLSKIEJ GRUPY SZPICZAKOWEJ (PGSZ)

Aleksander Salomon-Perzyński¹, Adam Walter-Croneck², Lidia Usnarska-Zubkiewicz³, Dominik Dytfeld⁴, Patrycja Zielińska⁵, Małgorzata Wojciechowska⁶, Jadwiga Hołojda⁷, Paweł Robak⁸, Anna Pasternak⁹, Wanda Knopińska-Posłuszny⁹, Dorota Hawrylecka¹⁰, Marcin Wójtowicz¹¹, Agnieszka Szeremet³, Michał Osowiecki¹², Monika Mordak-Domagala¹³, Jan Maciej Zaucha¹⁴, Krzysztof Giannopoulos^{15,16}, Krzysztof Warzocha¹, Krzysztof Jamrozia¹

¹Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

⁴Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

⁵Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Wydział Lekarski w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁶Oddział Hematologii, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Olsztynie

⁷Oddział Hematologii, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Legnicy

⁸Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Szpital im. Kopernika w Łodzi

⁹Oddział Hematologii, Samodzielny Publiczny Zakład Opieki Zdrowotnej Ministerstwa Spraw Wewnętrznych z Warmińsko-Mazurskim Centrum Onkologii w Olsztynie

¹⁰Oddział Hematologii Onkologicznej, Podkarpacki Ośrodek Onkologii, Brzozów

¹¹Oddział Hematologii i Onkologii Hematologicznej, Szpital Wojewódzki w Opolu

¹²Klinika Nowotworów Układu Chłonnego, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

¹³Dolnośląskie Centrum Transplantacji Komórkowych we Wrocławiu

¹⁴Gdyńskie Centrum Onkologii – Szpital Morski im. PCK, Gdynia

¹⁵Oddział Hematologii, Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej im. św. Jana, Lublin

¹⁶Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Daratumumab, pierwsze przeciwciało monoklonalne anty-CD38, uzyskało ostatnio rejestrację w Europie w leczeniu pacjentów z opornym lub nawrotowym szpiczakiem plazmocytowym (*relapsed/refractory multiple myeloma* – RRMM), u których stosowano wcześniej inhibitor proteasomu (PI) i lek immunomodulujący (IMiD).

Cel: Celem badania obserwacyjnego PGSz była perspektywna ocena skuteczności i bezpieczeństwa stosowania daratumumabu u pacjentów z RRMM leczonych w ramach programu wczesnego dostępu do daratumumabu w Polsce „Cepheus” (NPP Cepheus).

Materiał i metody: Do badania obserwacyjnego PGSz włączono wszystkich pacjentów zakwalifikowanych do NPP Cepheus.

Wyniki: Do badania włączono 30 pacjentów (12 mężczyzn, 18 kobiet) z medianą wieku 62,8 roku. Mediana wcześniejszych linii leczenia wynosiła 4 (zakres, 2–10). Podwójną oporność na PI oraz IMiD stwierdzono u 15 pacjentów (50%), 17 pacjentów było opornych na ostatnią linię leczenia. Mediany czasu obserwacji i leczenia daratumumabem wynosiły odpowiednio 7,2 oraz 5,6 miesięcy (zakres, 0–10,6 miesiąca). 18 pacjentów (60%) kontynuuje terapię daratumumabem. U 12 pacjentów leczenie przerwano z powodu progresji choroby (PD) ($n = 8$), działań niepożądanych (AE) ($n = 3$) i współwystępowania AE i PD ($n = 1$). Odsetek obiektywnych odpowiedzi na daratumumab (co najmniej odpowiedź częściowa) wyniósł 40,7% (dane dla $n = 27$ pacjentów). U 5 pacjentów (18,5%) uzyskano całkowitą odpowiedź (CR), u 2 (7,4%) – bardzo dobrą odpowiedź częściową (VGPR). Stabilizację choroby stwierdzono u 12 pacjentów (44,4%). Mediany czasu przeżycia wolnego od progresji (PFS) oraz przeżycia całkowitego (OS) nie zostały osiągnięte. W okresie obserwacji zarejestrowano 6 zgonów związanych z PD. Niehematologiczne AE 3. i 4. stopnia wg CTCAE wystąpiły u 9 pacjentów (30%) i obejmowały: reakcje związane z infuzją ($n = 2$), zapalenie płuc ($n = 3$) i inne infekcje ($n = 2$), zapalenie żuchwy ($n = 1$) oraz duszność ($n = 1$). Anemię, neutropenię i trombocytopenię 3. i 4. stopnia obserwowano odpowiednio u 4, 4 i 2 pacjentów. Znamienne krótsze PFS ($p = 0,003$) i OS ($p = 0,036$) obserwowano w grupie pacjentów podwójnie opornych na PI oraz IMiD.

Wnioski: Monoterapia daratumumabem w rutynowej praktyce klinicznej pozwala na uzyskanie zadowalającej odpowiedzi u znacznego odsetka chorych z RRMM. Skuteczność daratumumabu może być jednak mniejsza w grupie chorych podwójnie opornych na PI oraz IMiD. Daratumumab jest stosunkowo dobrze tolerowany, jednak w codziennej praktyce klinicznej u części chorych (13% w obecnej analizie) toksyczność terapii uniemożliwia jej kontynuację.

P22. JAK LECZYMY W CODZIENNEJ PRAKTYCE STARSZYCH CHORYCH (POWYŻEJ 75. ROKU ŻYCIA) NA SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO W POLSCE – WSTĘPNE WYNIKI PROSPEKTYWNEGO, PRZEKROJOWEGO, WIELOOŚRODKOWEGO BADANIA POLSKIEJ GRUPY SZPICZAKOWEJ

lek. Agata Tyczyńska¹, lek. Katarzyna Godlewska²,
lek. Edyta Subocz³, lek. Janusz Hałka³,
dr Hanna Ciepluch⁴, dr hab. med. Artur Jurczyszyn⁵,
lek. Anna Masternak⁶, lek. Alina Świdarska⁷,
dr Anna Waszczuk-Gajda⁸,
dr Joanna Drozd-Sokołowska⁸,
dr hab. med. Krzysztof Jamrozak⁹,
prof. dr hab. med. Wiesław Jędrzejczak⁸,
dr Krzysztof Leśniewski-Kmak¹⁰,
dr Dariusz Woszczyk⁶,
prof. dr hab. med. Aleksander Skotnicki⁵,
prof. dr hab. med. Piotr Rzepecki³,
prof. dr hab. med. Janusz Kłoczko²,
prof. dr hab. med. Jan Zaucha^{11,12}

¹Oddział Onkologii i Radioterapii, Gdyńskie Centrum Onkologii w Gdyni

²Klinika Hematologii, Uniwersytecki Szpital Kliniczny w Białymstoku

³Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie

⁴Wojewódzkie Centrum Onkologii w Gdańsku

⁵Klinika Hematologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

⁶Oddział Hematologii i Onkologii Hematologicznej w Opolu

⁷Kliniczny Oddział Hematologiczny, Wojewódzki Kliniczny Szpital w Zielonej Górze

⁸Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych w Warszawie

⁹Klinika Nowotworów Układu Chłonnego, Centrum Onkologii – Instytut, Warszawa

¹⁰Szpital Pomorskie Sp. z o.o., Szpital Morski im. PCK, Oddział Onkologii Klinicznej

¹¹Oddział Onkologii i Radioterapii, Gdyńskie Centrum Onkologii w Gdyni

¹²Zakład Propedeutyki Onkologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Mediana wieku zachorowania na szpiczaka plazmocytozy (MM) wynosi ok. 70 lat, jednak ok. 35% przypadków jest rozpoznawanych w wieku ≥ 75 lat. U wielu pacjentów współistnieją inne schorzenia, co wymaga indywidualizacji postępowania.

Cel: Analiza sposobów leczenia 1. linii starszych chorych na MM w Polsce i ocena, czy istnieje związek między sposobem leczenia a stanem chorego.

Materiał i metody: Włączono chorych na MM, którzy w chwili rozpoznania mieli ≥ 75 lat i są nadal leczeni. Analizowano stopień zaawansowania MM wg klasyfikacji ISS i Duriego-Salmona, choroby towarzyszące, stan sprawności wg skali ECOG i Katza oraz sposób leczenia.

Wyniki: Włączono 127 osób z 8 ośrodków: 64 (50,4%) mężczyzn i 63 (49,6%) kobiety, o medianie wieku 79 lat (75 pacjentów 92). Większość rozpoznano w stadium III: odpowiednio 87 (68,5%) wg Duriego-Salmona i 70 (55,1%) wg ISS, w stopniu II: odpowiednio 23 (18,1%) i 39 (30,7%), w stopniu I: 15 (11,8%) i 17 (13,4%). W stopniu sprawności 1. i 2. wg skali ECOG było odpowiednio 53 (41,7%) i 42 (33%) osób, w stopniu 3. i 4. odpowiednio 9 (7%) i 7 (5%) osób. Według skali Katza 106 (83,5%) chorych określono jako całkowicie sprawnych, 11 (8,6%) jako umiarkowanie sprawnych i 9 (7,1%) jako całkowicie niesprawnych. U większości 110 (86,6%) stwierdzono choroby współistniejące: w tym u 104 (89,9%) nadciśnienie tętnicze, 46 (36,2%) choroby układu krążenia, 25 (19,7%) układu oddechowego, 24 (18,9%) nerek i 24 (18,6%) cukrzycę oraz u 11 (8,7%) wątroby, u 12 (9,4%) inne nowotwory. W 1. linii leczenia u 108 (85%) zastosowano schematy 3-lekowe, 2-lekowe u 18 (14,2%) chorych, 1 (0,8%) pozostał w obserwacji. Wśród schematów 3-lekowych przeważały 56 (44,1%) skojarzenia sterydu z lekiem alkilującym (melfalan/cyklofosfamid) i z immunomodulującym (IMiD), w dalszej kolejności 35 (27,6%) z lekiem alkilującym i z inhibitorem proteasomów (bortezomib), najrzadziej 17 (9,4%) z IMiD i z bortezomibem. Wśród 2-lekowych najczęściej 13 (10,2%) stosowano steryd połączony z lekiem alkilującym, u 3 (2,4%) z bortezomibem, u 2 (1,6%) z IMiD. Schemat 2-lekowy zastosowano z 1 wyjątkiem, u chorych całkowicie sprawnych wg Katza, natomiast niemal wszyscy umiarkowanie sprawni i wszyscy całkowicie niesprawni chorzy otrzymali schemat 3-lekowy, głównie CTD i MPV. Schemat VTD zastosowano u 2 chorych umiarkowanie sprawnych i 15 sprawnych.

Wnioski: Chorzy na MM ≥ 75 lat najczęściej otrzymują leczenie 3-lekowe bez względu na stopień sprawności. Najczęściej wybierane są schematy 3-lekowe zawierające steryd z lekiem alkilującym i z IMiD, rzadziej z bortezomibem.

P23. OCENA SKUTECZNOŚCI I BEZPIECZEŃSTWA LECZENIA POMALIDOMIDEM W SKOJARZENIU Z LUB BEZ DEKSAMETAZONU I BORTEZOMIBU U CHORYCH NA NAWROTOWEGO/OPORNEGO SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO – RAPORT POLSKIEJ GRUPY SZPICZAKOWEJ

dr Grzegorz Charliński¹, lek. Weronika Piszczek¹, dr hab. Artur Jurchyszyn², Mariusz Janczarski³, Agnieszka Szeremet⁴, dr Anna Waszczuk-Gajda⁵, Paweł Bernatowicz⁶, Ryszard Wichary⁷, Alina Świdarska⁸, Ewa Guzicka⁹, Alina Urbanowicz¹⁰, dr hab. Ewa Lech-Marańda¹¹, Agnieszka Gontarska¹², Andrzej Szczepaniak¹³, dr Elżbieta Wiater¹, prof. Anna Dmoszyńska¹⁴

¹Oddział Hematologii, Specjalistyczny Szpital Miejski im. M. Kopernika w Toruniu

²Klinika Hematologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

³Klinika Onkologii i Hematologii, Centralny Szpital Kliniczny MSWiA w Warszawie

⁴Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

⁵Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁶Klinika Hematologii, Uniwersytecki Szpital Kliniczny w Białymstoku

⁷Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁸Kliniczny Oddział Hematologii, Wojewódzki Szpital Kliniczny w Zielonej Górze

⁹Klinika Hematologii i Transplantologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

¹⁰Oddział Onkologii Klinicznej i Hematologii, Szpital Wojewódzki im. Rydygiera w Suwałkach

¹¹Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

¹²Oddział Hematologiczny, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Legnicy

¹³Klinika Hematologii i Chorób Rozrostowych Układu Krwiotwórczego, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

¹⁴Samodzielna Pracownia Transplantologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Szpiczak plazmocytowy (SzP) charakteryzuje się nawrotami. Lekiem stosowanym w terapii nawrotowego/opornego (n/o) SzP jest pomalidomid (Pom).

Cel: Ocena skuteczności leczenia wg IMWG, całkowitego przeżycia (OS), przeżycia wolnego od progresji (PFS) i bezpieczeństwa leczenia pomalidomidem (Pom) w skojarzeniu z lub bez Dex i Bort u chorych na n/o SzP.

Materiał i metody: Analizie retrospektywnej poddano chorych na n/o SzP leczonych w Polsce od kwietnia 2014 r. do marca 2017 r. Pom w skojarzeniu z/bez Dex i Bort. Pom stosowano w dawce 4 mg, p.o. 1.–21. d., Dex: 20–40 mg 1.–4. d, Bort: 1,3 mg/m² s.c. 1., 4., 8., 11. d, cykle 28-dniowe. Analizy statystycznej doko-

nano w oparciu o program Statistica w.13.1. z użyciem testu log-rank.

Wyniki: Analizie retrospektywnej poddano 53 (25 mężczyzn) chorych w wieku 40–79 (mediana: 63) lat na n/o SzP. U 30 chorych rozpoznano SzP IgG, u 12: IgA, u 10: chorobę łańcuchów lekkich i u 1: SzP niewydzielającego. SzP w ISS-1: 17 chorych, ISS-2: 21, ISS-3: 13 chorych. Pomalidomid w monoterapii zastosowano u 2 chorych, PomDex u 41 chorych, PomDex z Bort u 10 chorych. Liczba cykli: 1–23 (mediana: 4,5). Liczba linii poprzedzających leczenie Pom wyniosła 2–8 (mediana: 4). Oceny skuteczności leczenia dokonano u 48 chorych. Co najmniej PR uzyskało 18 (37%) chorych, w tym 1 (2%) chory uzyskał CR, 2 (4%): VGPR i 15 (31%): PR. U 14 (29%) chorych stwierdzono SD i u 16 (34%) PD. Mediana OS i PFS wyniosła odpowiednio 12,3 miesiąca i 9,7 miesiąca. W zależności od uzyskanej odpowiedzi > PR vs < PR mediana OS wyniosła odpowiednio: 29 i 11 miesięcy ($p = 0,0069$), a mediana PFS odpowiednio: 14 i 7 miesięcy ($p = 0,004$). W zależności od linii leczenia poprzedzających Pom (< 4 linii vs > 4 linie) mediana OS wyniosła odpowiednio 29 i 10,9 miesiąca ($p = 0,03$), a mediana PFS: 18,9 vs 7 miesięcy ($p = 0,02$). U 38 (71,7%) chorych stwierdzono hematologiczne AE, w tym poważne (3° i 4°) u 21 chorych. Neutropenię stwierdzono u 18 (34%) chorych (> 3° u 11 chorych), niedokrwistość u 12 (22,6%) chorych (> 3° u 4 chorych) i małopłytkowość u 8 (15%) chorych (> 3° u 6 chorych). U 23 (43,4%) chorych stwierdzono niehematologiczne AE, w tym poważne (3° i 4°) AE u 5 (9,4%) chorych. Najczęściej były to zakażenia (14 chorych), w tym zapalenie płuc (4 chorych). U 3 chorych stwierdzono polineuropatię obwodową, u 2 chorych zakrzepicę żylną, u 2 chorych ostrą niewydolność wątroby, u 1 chorego ostrą niewydolność serca i u 1 chorego zmęczenie.

Wnioski: Pomalidomid jest skutecznym sposobem leczenia chorych na n/o SzP przy akceptowalnych AE.

P24. TRANSPLANTACJA ALLOGENICZNYCH KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH U CHORYCH NA SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO W POLSCE: ANALIZA RETROSPEKTYWNA POLSKIEJ GRUPY SZPICZAKOWEJ (PGSz)

Aleksandra Gołos¹, Lidia Gil², Piotr Boguradski³, Kazimierz Hałaburda⁴, Waldemar Sawicki⁵, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka⁶, Grzegorz Helbig⁷, Jarosław Dybko⁸, Artur Jurchyszyn⁹, Bartosz Puła¹, Krzysztof Warzocha¹, Krzysztof Jamrozik¹

¹Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

³Katedra i Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁴Klinika Transplantacji Komórek Krwiotwórczych, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁵Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie

⁶Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii, Centrum Onkologii – Instytut, Gliwice

⁷Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁸Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Wrocław

⁹Katedra i Klinika Hematologii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Wstęp: Pomimo znacznego postępu w leczeniu, szpiczak plazmocytowy (SzP) pozostaje chorobą nieuleczalną. Przeszczepienie allogenicznych komórek krwiotwórczych (alloHSCT) jest uważane za jedyną metodę pozwalającą wyleczyć SzP u wybranych chorych, jednak zabieg ten wiąże się z wysokim ryzykiem ciężkich powikłań.

Cel: Celem pracy była retrospektywna ocena skuteczności i toksyczności zabiegów alloHSCT wykonanych u chorych na SzP w 8 ośrodkach współpracujących w ramach Polskiej Grupy Szpiczakowej (PGSz).

Materiał i metody: Kryterium włączenia stanowiło wykonanie alloSCT u chorego na SzP, w dowolnej linii leczenia, w latach 1990–2016. Przeżycie wolne od progresji (PFS) oceniano jako czas od alloHSCT do progresji SzP lub zgonu. Czas przeżycia (OS) zdefiniowano jako czas od alloHSCT do zgonu lub ostatniej obserwacji. Umieralność zależną od leczenia (TRM) określono jako zgon z przyczyn innych niż progresja lub wznowa SzP.

Wyniki: Do analizy włączono 60 pacjentów (34 mężczyzn, 26 kobiet). Mediana wieku chorych w czasie wykonania alloSCT wynosiła 46 lat (zakres 22–59). U 19 (32%) chorych wskazaniem była konsolidacja odpowiedzi uzyskanej w terapii 1. linii, a u 41 (68%) pacjentów – progresja/nawrót SzP. Mediana linii leczenia przed alloHSCT u chorych z nawrotowym/opornym SzP wynosiła 3 (zakres 1–8). 45 chorych (75%) miało wcześniej wykonany autoHSCT. U 16 chorych

(27%) zastosowano kondycjonowanie mieloablacyjne (MAC), a u 44 (73%) pacjentów o zredukowanej intensywności (RIC). U 30 pacjentów wykonano alloHSCT od dawcy rodzinnego, u 29 od dawcy niespokrewnionego, a u 1 chorego od dawcy haploidentycznego. W okresie obserwacji po alloHSCT u 23 pacjentów (38%) stwierdzono nawrót SzP, natomiast w grupie chorych, w których alloHSCT był wykonany w CR/VGPR, u 74% nie doszło do wznowy choroby (14/19 chorych). Mediana PFS wyniosła 10 miesięcy. Wśród chorych przeszczepionych w CR/VGPR OS wyniosła 26 miesięcy. Łącznie 37 chorych (62%) zmarło. TRM wyniosło 54%. Przyczynami zgonów były: choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi u 19% chorych, infekcje u 27% chorych, inne przyczyny u 8% chorych. Mediana OS w całej grupie wyniosła 23 miesiące.

Wnioski: Uzyskane dane sugerują, że wykonanie alloHSCT w SzP wiąże się z dużym ryzykiem powikłań, w tym TRM, pozwala jednak na uzyskanie długoletnich przeżyć u części chorych. Przedstawione wyniki nie pozwalają na wyodrębnienie chorych, którzy mogą odnieść największą korzyść z tej metody terapii.

CHŁONIAK HODGKINA

PRZEWODNICZĄCY: J. WALEWSKI
(WARSZAWA), J.M. ZAUCHA (GDAŃSK)

Doniesienia ustne

WSTĘPNE WYNIKI BADANIA PILOTOWEGO BURGUND U CHORYCH NA ZAAWANSOWANEGO CHŁONIAKA HODGKINA PO NIEPOWODZENIU LECZENIA WG PROGRAMU ABVD. WIELOOŚRODKOWE BADANIE KLINICZNE POLSKIEJ GRUPY BADAWCZEJ CHŁONIAKÓW (PLRG)

prof. Jan Maciej Zaucha^{1,2}, dr Ewa Paszkiewicz-Kozik³, dr Agata Tyczyńska¹, dr Michał Taszner⁴, dr Justyna Rybka⁵, dr Paweł Kurczab^{6,7}, dr Joanna Drozd-Sokołowska⁸, dr Bogdan Małkowski⁹, dr Grzegorz Romanowicz¹⁰, prof. Tomasz Wróbel⁵, prof. Sebastian Giebel¹¹, prof. Jan Walewski³

¹Oddział Onkologii i Radioterapii, Gdyńskie Centrum Onkologii

²Zakład Propedeutyki Onkologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

³Klinika Nowotworów Układu Chłonnego, Centrum Onkologii – Instytut, Warszawa

⁴Klinika Hematologii i Transplantologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

⁵Klinika Hematologii i Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

⁶Oddział Chemioterapii, Podkarpacki Ośrodek Onkologiczny, Brzozów

⁷Poradnia Onkologiczna z Oddziałem Chemioterapii
Dziennej, NZOZ Mrukmed, Rzeszów

⁸Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁹Zakład Medycyny Nuklearnej, Centrum Onkologii
w Bydgoszczy

¹⁰Zakład Medycyny Nuklearnej, Gdański Uniwersytet
Medyczny

¹¹Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii, Centrum
Onkologii w Gliwicach

Wstęp: Program BGD (bendamustyna, gemcytabina, deksametazon) pozwala na uzyskanie ok. 60% odpowiedzi u chorych na chłoniaka Hodgkina (HL) po wielu liniach leczenia. Celem badania BURGUND jest ocena odpowiedzi na BGD zastosowany już w II linii u chorych na zaawansowanego HL po niepowodzeniu leczenia ABVD, tj. ze wznową po zakończeniu ABVD (grupa ABVD-ukończony) lub z dodatnim badaniem PET po 2 cyklu ABVD (grupa PET2+). Po podaniu 2 cykli BGD chorzy z całkowitą (CMR) lub częściową (PMR) remisją metaboliczną oraz z wystarczającą liczbą zebranych komórek CD34 zostają poddawani autologicznej transplantacji komórek krwiotwórczych (auto-HCT). Pozostali chorzy mogą kontynuować leczenie BGD do 4 cykli lub są wyłączeni z badania.

Cel: Wstępna ocena bezpieczeństwa i skuteczności programu BGD u chorych z niepowodzeniem leczenia wg programu ABVD, a także ocena skuteczności mobilizacji komórek CD34.

Materiał i metody: Do badania zgłoszono 22 chorych, w tym 10 kobiet i 12 mężczyzn. Mediana wieku wynosiła 30 (20–54) lat. Niezbędne dane do obecnej analizy obejmowały wyniki badania PET po 2 BGD oraz wyniki mobilizacji.

Wyniki: Pełne dane uzyskano o 12 chorych, w tym 4 z grupy PET2+ i 8 z grupy ABVD-ukończony. Tolerancja BGD była dobra – tylko u 2 chorych obserwowano zdarzenia niepożądane 3. i 4. stopnia: zapalenie płuc oraz zaostrzenie infekcji HCV. U 9 (75%) uzyskano CMR po 2 cyklach BGD, w tym u 3 (75%) z PET2+ i 6 (75%) z grupy ABVD-ukończony. Dwóch chorych uzyskało PMR (1 z grupy PET2+ i 1 z ABVD-ukończony) kontynuowali oni leczenie BGD. 1 chory z grupy ABVD-ukończony nie uzyskał odpowiedzi na leczenie BGD i został wyłączony z badania. Komórki CD34 w trakcie pierwszych 2 cykli BGD zebrano u 8 (66%) chorych. Przyczyną braku zbiórki były: u 1 chorego decyzja ośrodka transplantacyjnego, u 2 chorych nieefektywna mobilizacja, u 1 chorego zaostrzenie infekcji HCV. U 3 z tych 4 chorych udało się zebrać komórki w trakcie dalszego leczenia. Do auto-HCT po 2 BGD zostało zakwalifikowanych 9 (75%) chorych; 6 z nich kontynuowało leczenie BGD z powodu oczekiwania na termin auto-HCT. Jeden chory spełnił kryteria kwalifikacji do auto-HCT po 3 BGD. Z 10 chorych zakwalifikowanych do auto-HCT procedurę wykonano u 7 chorych, 2 chorych oczekuje, 1 chory zmarł przed auto-HCT z powodu progresji choroby. Pozostali chorzy żyją i pozostają w remisji.

Wnioski: Program BGD pozwala na uzyskanie u ok. 80% chorych na HL po niepowodzeniu leczenia ABVD odpowiedzi wystarczającej do kwalifikacji do auto-HCT i cechuje się dużym potencjałem mobilizacyjnym.

OCENA SKUTECZNOŚCI I BEZPIECZEŃSTWA BRENTUKSYMABU VEDOTINU STOSOWANEGO W MONOTERAPII LUB W SKOJARZENIU Z BENDAMUSTYNĄ U CHORYCH NA OPORNE I NAWROTOWE POSTACI CHŁONIAKA HODGKINA – WIELOOŚRODKOWE BADANIE POLSKIEJ GRUPY BADAWCZEJ CHŁONIAKÓW (PLRG)

dr hab. n. med. Anna Czyż¹,
dr Anna Łojko-Dankowska¹,
prof. Mieczysław Komarnicki¹, dr Justyna Rybka²,
prof. Tomasz Wróbel², dr Edyta Subocz³,
prof. Piotr Rzepecki³, dr Ewa Paszkiewicz-Kozik⁴,
prof. Jan Walewski⁴, dr Dorota Hawrylecka⁵,
prof. Andrzej Pluta⁵, dr Magdalena Witkowska⁶,
prof. Piotr Smolewski⁶, prof. Jan Maciej Zaucha⁷

¹Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku,
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

²Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi
i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

³Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowy
Instytut Medyczny w Warszawie

⁴Klinika Nowotworów Układu Chłonnego, Centrum Onkologii
im. Marii Curie-Skłodowskiej w Warszawie

⁵Oddział Hematologii, Podkarpacki Ośrodek Onkologiczny
w Brzozowie

⁶Zakład Hematologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny
w Łodzi

⁷Gdyńskie Centrum Onkologii i Zakład Propedeutyki
Onkologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Brentuksymab vedotin (BV) wykazuje wysoką skuteczność w monoterapii u chorych na postać oporną lub nawrotową (R/R) chłoniaka Hodgkina (HL). Dane literaturowe sugerują możliwość poprawy wyników leczenia przez skojarzenie BV z chemioterapią.

Cel: Retrospektywna ocena skuteczności i bezpieczeństwa BV stosowanego w monoterapii lub w skojarzeniu z bendamustyną (BBV) u chorych na R/R HL.

Materiał i metody: Analizie poddano wyniki leczenia BV (1,8 mg/kg 1. dnia 21-dniowego cyklu) lub BBV (dodatkowo bendamustyna 90 mg/m² 1. i 2. dnia cyklu) stosowanego u chorych na R/R HL w latach 2013–2017. Odpowiedzi metaboliczne oceniano za pomocą badania PET/CT po 2 cyklach i na zakończenie leczenia.

Wyniki: Do badania zgłoszono 49 chorych na R/R HL, w wieku od 19 do 66 (mediana 33) lat, u których wcześniej zastosowano od 2 do 12 (mediana 3) linii chemio-

terapii. U 18 chorych leczenie BV/BBV prowadzono po autologicznej transplantacji komórek krwiotwórczych (autoHCT), a u 4 chorych po allogenicznej HCT (alloHCT) poprzedzonej autoHCT. Leczenie BV i BBV zastosowano odpowiednio u 26 i 23 chorych. W grupie zakwalifikowanej do BBV znamienne wyższy odsetek chorych poddany był wcześniej HCT (61% vs 31%, $p = 0,034$), poza tym nie wykazano różnic między porównywanymi grupami. Mediana podanych cykli BV wyniosła 4 (od 1 do 14), a BBV 2 (od 1 do 7). Neutropenia 3.–4. stopnia wystąpiła u 8% chorych leczonych BV i 13% leczonych BBV ($p = 0,54$), małopłytkowość odpowiednio u 0% i 13% ($p = 0,06$), a toksyczność pozahematologiczna u 8% i 22% chorych ($p = 0,16$). Dwóch chorych zmarło w trakcie leczenia BBV z powodu zapalenia płuc, oboje poddani wcześniej HCT, z zajęciem płuc w przebiegu HL. Odsetek odpowiedzi w grupie leczonej BV wyniósł 92%, a w grupie BBV 87% ($p = 0,34$). Całkowitą remisję metaboliczną na zakończenie leczenia w porównywanych grupach uzyskało odpowiednio 50% i 48% chorych ($p = 0,32$). Po leczeniu BV 6/26 (23%) chorych poddanych było autoHCT, a 1 (4%) chory alloHCT. Po leczeniu BBV u 7/23 (30%) chorych przeprowadzono autoHCT, u 5/23 (22%) alloHCT, a u 1 chorego po alloHCT zastosowano DLI. Całkowite przeżycie po roku w grupie leczonej BV wyniosło 84%, a w grupie leczonej BBV 81% ($p = 0,88$). Przeżycie wolne od progresji po roku w porównywanych grupach wyniosło odpowiednio 47% i 58% ($p = 0,46$).

Wnioski: Uzyskane wyniki potwierdzają wysoką skuteczność BV zarówno w monoterapii, jak i w leczeniu skojarzonym BBV w R/R HL. Odpowiedź uzyskana po leczeniu BBV umożliwia przeprowadzenie HCT u wysokiego odsetka chorych.

Plakaty

P1. CHŁONIAK Z KOMÓREK PŁASZCZA PĘCHERZYKA ŻÓŁCIOWEGO – OPIS PRZYPADKU

dr Diana Iwaniuk, dr n. med. Konrad Pielaciński, dr Wojciech Dąbrowski, dr Michał Kuryłowicz, prof. Andrzej Szczepaniak

Klinika Chirurgii Ogólnej, Onkologicznej i Metabolicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Chłoniak z komórek płaszcza jest rzadką postacią nowotworu układu chłonnego. Zajęcie pęcherzyka żółciowego w zaawansowanej chorobie występuje niezwykle rzadko.

Cel: Celem pracy jest przedstawienie przypadku ostrego zapalenia pęcherzyka żółciowego u pacjenta z chłoniakiem z komórek płaszcza i zastosowanej taktyki postępowania.

Materiał i metody: U 72-letniego pacjenta z rozpoznaniem przed 10 miesiącami chłoniakiem z komórek płaszcza (wariant blastoidny CS IV B, MIPI 6,7) z limfadenopatią obwodową i klatki piersiowej, splenomegalią, zajęciem szpiku kostnego zastosowano VI kursów I linii chemioterapii, wg schematu R-Bendamustyna, zakończone po 6 miesiącach. Wykonano kontrolne badania obrazowe (TK, ECHO serca, trepanobiopsję, FACS), w których stwierdzono regresję zmian. Po 3 miesiącach pacjent zgłosił się z bólami w prawym podżebrzu. Objawów otrzewnowych nie stwierdzono. W morfologii krwi obwodowej – pancytopenia. W badaniach biochemicznych – CRP 299 mg/l, poza tym bez istotnych odchyśleń. W badaniu USG stwierdzono pęcherzyk żółciowy o pogrubiałej do 2 cm, nieregularnej ścianie z odczynem zapalnym wokół. Rozpoznano ostre bezkamicze zapalenie pęcherzyka żółciowego. Zastosowano leczenie zachowawcze, które obejmowało stosowanie szeroko spektralnej antybiotykoterapii (ceftriakson, ciprofloksacyna, metronidazol), żywienia pozajelitowego i czynnika wzrostu kolonii granulocytarnych. Uzyskano stopniową regresję parametrów stanu zapalnego oraz ustąpienie neutropenii. W 7. dobie po przyjęciu wykonano cholecystektomię laparoskopową.

Wyniki: Operację pacjent zniósł dobrze. Czas operacji 80 min. Nie stwierdzono żadnych powikłań śród- i pooperacyjnych. Żywienie doustne od 1. doby, kontynuowano antybiotykoterapię. Obserwowano regresję parametrów zapalnych, ustąpienie małopłytkowości, stopniowy wzrost stężenia hemoglobiny oraz stabilizację poziomu neutrofili. W badaniu hist.-pat. stwierdzono pełnościenny nacieki chłoniaka z komórek płaszcza, wariant blastoidny. W wykonanej tomografii komputerowej klatki piersiowej i jamy brzusznej stwierdzono powiększenie węzłów chłonnych krezkowych i zaotrzewnowych oraz zmiany naciekowe w tkance tłuszczowej okołonerkowej. Chorego w dobrym stanie ogólnym wypisano do domu w 10. dobie po operacji.

Wnioski: Zajęcie pęcherzyka żółciowego przez chłoniaka z komórek płaszcza występuje niezwykle rzadko. Objawy kliniczne i obraz USG są typowe dla bezkamiczego zapalenia pęcherzyka żółciowego. Leczeniem z wyboru jest cholecystektomia laparoskopowa.

Introduction: Mantle cell lymphoma is a rare type of lymphoid system malignancy. Infiltration of the gall bladder in the advanced stage of the disease is very uncommon.

Aim: Presentation of a case and treatment regime for acute cholecystitis in a mantle cell lymphoma patient.

Material and methods: 72 year old patient with mantle cell lymphoma recognized 10 months earlier (blastoid variant CS IV B, MIPI 6,7), with mediastinal and peripheral lymphadenopathy, splenomegaly and bone marrow infiltration was subjected to VI cycles of first-line chemotherapy (R-Bendamustine regimen) which lasted 6 months. Regression was observed in control imaging (CT, echocardiography, trepanobiopsy, FACS). Three months later the patient reported pain in the right hypochondrium. No peritoneal symptoms were observed. Peripheral blood smear revealed pancytopenia. CRP 299 mg/l was found in biochemical tests

with no other significant changes. Irregular gall bladder wall thickening (2 cm) and inflammation appeared in ultrasound imaging. Acute acalculous cholecystitis was diagnosed and conservative treatment applied including broad-spectrum antibiotic therapy (ceftriaxson, ciprofloxacin, metronidazole), parenteral nutrition and granulocyte colony-stimulating factors. Gradual regression of inflammatory parameters and neutropenia remittance was achieved. Laparoscopic cholecystectomy was performed on the 7th day of admission.

Results: The surgical procedure was well tolerated by the patient. Operating time – 80 min. No intra- or peri-operative complications were observed. Oral feeding was introduced on postoperative day 1 and antibiotic therapy was continued. Regressed inflammation parameters and thrombocytopenia were reported as well as gradually increasing hemoglobin concentration and stabilization of neutrophil count. Histopathology revealed transmural infiltration of mantle cell lymphoma, blastoid variant. Chest and abdominal CT revealed enlarged mesenteric and retroperitoneal lymph nodes as well as perirenal fat infiltrations. The patient was discharged from hospital on post operative day 10 in an overall satisfactory condition.

Conclusions: Infiltration of gall bladder with mantle cell lymphoma is extremely rare. The clinical symptoms and ultrasound imaging is the same as for acalculous cholecystitis. Laparoscopic cholecystectomy is the treatment of choice.

P2. CHŁONIAK Z KOMÓREK PŁASZCZA O LOKALIZACJI JELITOWEJ PRZEBIEGAJĄCY POD MASKĄ WRZODZIEJĄCEGO ZAPALENIA JELITA GRUBEGO

lek. Jędrzej Grad, lek. Jędrzej Grad,
lek. Paweł Chrzastek, lek. Anna Masternak,
dr Joanna Pogrzeba, dr Dariusz Woszczyk

Oddział Hematologii i Onkologii Hematologicznej, Szpital Wojewódzki w Opolu

Prezentujemy przypadek 58-letniego pacjenta, u którego w 2014 r. na podstawie objawów klinicznych i badania histopatologicznego wycinka z koloskopii rozpoznano wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG). W koloskopii stwierdzano naciekowe zmiany w odbytnicy i esicy z towarzyszącym powiększeniem węzłów chłonnych w jamie brzusznej. Pacjent w terapii otrzymał sulfasalazynę i kortykosterydy z poprawą. W czerwcu 2015 r. hospitalizacja z powodu zaostrzenia objawów WZJG, w dalszym przebiegu doszło do powiększenia węzłów chłonnych pachwinowych. W badaniu histopatologicznym węzła postawiono diagnozę chłoniaka z komórek płaszcza/CD20(+), CD5(+), cykliny D1(+), CD23(–). W TK z października 2015 r. uogólniona limfadenopa-

tia, węzły ok. 20 mm średnicy, największe we wnęcie wątroby 32 x 24 mm. Przekazany do oddziału hematologii, gdzie otrzymał leczenie rytuksymab + bendamustyna ze zredukowaną dawką rytuksymabu ze względu na współistniejące WZJG. Tolerancja leczenia była dobra. W ponownej ocenie wycinków z jelita grubego stwierdzono obraz chłoniaka z komórek płaszcza i nie potwierdzono rozpoznania WZJG. W tej sytuacji, od 2 cyklu chemioterapii, zdecydowano o podaniu należytnej dawki rytuksymabu i odstawiono sulfasalazynę. W kontrolnym TK po 3 cyklach leczenia nie stwierdzono limfadenopatii. Podano łącznie 6 cykli chemioterapii. Tolerancja leczenia dobra, odroczone jedynie jeden cykl terapii z powodu agranulocytozy. W tomografii komputerowej i koloskopii po leczeniu stwierdzono całkowitą remisję choroby, która utrzymuje się do chwili obecnej. W kontrolnym badaniu histopatologicznym jelita śluzówka prawidłowa. Opisany przypadek potwierdza często występujący w przebiegu MCL nacieki jelita grubego. Jednak typowe zajęcie jelit w przebiegu chłoniaków B-kom. to zmiany polipowate (*multiple lymphomatous polyposis* – MLP). W naszym przypadku opisujemy rzadką formę zajęcia jelita morfologicznie przypominającą WZJG, gdzie w obrazie histologicznym także widoczny jest nacieki z małych limfocytów B. Decydujący o błędnym rozpoznaniu był początkowy brak barwień immunohistochemicznych. Niezwykle istotna jest zatem czujność onkologiczna w przypadku stwierdzenia zmian w jelicie, zwłaszcza o typie MLP. Konieczna jest ona także w przypadku stwierdzenia zmian wrzodziejących, w szczególności tych, którym towarzyszy powiększenie węzłów chłonnych i/lub śledziony. Rozważyć należy zasadność przeprowadzania badań endoskopowych przy rozpoznaniu MCL, zwłaszcza że PET może nie pokazać zmian w jelicie.

P3. OCENA MASY RESZTKOWEJ U DZIECI Z CHŁONIAKIEM HODGKINA (HD) PO ZAKOŃCZONYM LECZENIU PRZECIWNOWOTWOROWYM

dr Agnieszka Wziątek¹, student Urszula Naumowicz²,
student Maria Płocka², student Marcin Stański²,
dr Michał Dopierała³, dr hab. Katarzyna Derwich¹,
prof. Jacek Wachowiak¹

¹Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii
Pediatrycznej (KOHITP), Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

²Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Onkologii,
Hematologii i Transplantologii Pediatrycznej, Uniwersytet
Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

³Pracownia Patomorfologii, Szpital Kliniczny
im. Karola Jonschera w Poznaniu

Wstęp: Chłoniak Hodgkina (HD) jest chorobą nowotworową układu chłonnego i może rozwinąć się w każdym miejscu, w którym znajduje się tkanka limfatyczna,

a także w narządach pozalimfatycznych. Najczęstszym objawem klinicznym jest niesymetryczne powiększenie węzłów chłonnych szyjnych, nadobojczykowych, śródpiersia oraz wnęk płucnych. Często po zakończeniu leczenia obserwuje się pozostałość masy resztkowej w postaci węzłów lub masy w śródpiersiu.

Cel: Ocena masy resztkowej u dzieci z HD po zakończonym leczeniu przeciwnowotworowym i wpływ jej obecności na rokowanie.

Materiał i metody: Ocenie poddano 81 dzieci z HD: 43 (53%) chłopców i 38 (47%) dziewczynek w wieku od 3 do 18 lat (mediana 14 lat). Czterdziestu pięciu (55%) pacjentów było leczonych wg programu HD97, natomiast 35 (43%) było leczonych wg programu EuroNet-PHL-C1, 1 dziecko ze względu na zespół A-T było leczone w sposób indywidualny.

Wyniki: U 60 (74%) dzieci [29 (48%) dziewczynek i 31 (52%) chłopców] obserwowano obecność guza resztkowego w postaci powiększonych węzłów chłonnych lub masy w śródpiersiu zaraz po zakończeniu leczenia. Wśród tych pacjentów rozpoznano HD typ NS u 49 (82%), MC u 8 (13%), LR-cHD u 3 (5%). 27 (45%) dzieci było leczonych wg Programu EuroNet PHL-C1, a 33 (55%) wg Protokołu HD'97. Wśród pacjentów z resztkową masą guza u 23 (38%) HD rozpoznano w IV, 12 (20%) w III, 22 (37%) w II, a 3 (5%) w I stopniu zaawansowania klinicznego. U 7 (15.5%) spośród 45 leczonych wg programu HD97 pacjentów, gdy badanie PET-CT nie było jeszcze dostępne, wykonano biopsję guza resztkowego śródpiersia drogą torakoskopii lub torakotomii i u żadnego nie potwierdzono obecności komórek nowotworowych. Zmiany resztkowe stopniowo w ciągu 5 lat obserwacji ulegały regresji powyżej 75% masy wyjściowej u 70 (85%) dzieci. U 8 (9.8%) pacjentów z guzem resztkowym wystąpiła progresja/wznowa choroby do 3 lat po zakończeniu leczenia.

Wnioski: Stwierdzono obecność masy resztkowej po zakończonym leczeniu przeciwnowotworowym u blisko 74% chorych z HD, najczęściej występującą w typie NS HD, która nie miała związku ze stopniem zaawansowania klinicznego choroby ani rodzajem zastosowanego schematu terapeutycznego. Ze względu na ryzyko wystąpienia wznowy HD u pacjentów z guzem resztkowym konieczny jest ścisły nadzór medyczny po zakończonym leczeniu.

Wstęp: Chłoniak Hodgkina (HL) należy do nowotworów hematologicznych o korzystnym rokowaniu. Zastosowanie chemioterapii I linii pozwala na osiągnięcie wyleczenia u ok. 80% pacjentów. Około 20% pacjentów (pts) wymaga zastosowania leczenia II linii. Najczęściej stosowanym schematem pierwszej linii jest ABVD (adriblastyna, winblastyna, bleomycyna, dakarbazyna). Zastosowanie leczenia drugiej linii nie jest jednoznacznie określone.

Cel: Celem badania była retrospektywna analiza ocena skuteczności leczenia schematem BEACOPP (bleomycyna, etopozyd, adriblastyna, cyklofosfamid, winkrystyna, prokarbazyna, prednizon) u pts, którzy po leczeniu ABVD nie uzyskali zadowalającej odpowiedzi.

Materiał i metody: W latach 2010–2016 do retrospektywnej analizy zostało włączonych 16 pts (63% kobiet) z rozpoznaniem HL: NS 14 (88%) pts, MC 1 (6%) pt, LP 1 (6%) pt. Mediana wieku w momencie diagnozy wyniosła 27 lat (zakres 21–62). Zaawansowanie choroby według klasyfikacji Ann Arbor: I $n = 1$ (6%), II $n = 8$ (50%), III $n = 3$ (19%), IV $n = 4$ (25%). Objawy ogólne stwierdzono u 8 (50%) pts. U wszystkich pts zastosowano leczenie I linii wg schematu ABVD z medianą liczby cykli 6 (zakres 2–8). Na podstawie badań obrazowych odpowiedź na leczenie oceniono następująco: całkowita remisja (CR) 1 (6%) pt, częściowa odpowiedź (PR) 8 (50%) pts, brak remisji (NR) 2 (13%) pts, progresja choroby (PD) 5 (31%) pts. U wszystkich pacjentów z NR/PD zastosowano leczenie II linii wg protokołu BEACOPP, z medianą liczby cykli 3 (zakres 2–5).

Wyniki: W kontrolnych badaniach obrazowych po leczeniu II linii uzyskano następującą odpowiedź: 50% (8 pts) uzyskało PR, CR uzyskało 37% (6 pts), u 12% (2 pts) stwierdzono PD. Nie obserwowano znaczących (WHO > II) powikłań w trakcie leczenia według schematu BEACOPP. U wszystkich pacjentów wykonano autologiczne przeszczepienie macierzystych komórek krwiotwórczych (AHSCT). Krzywa całkowitego przeżycia (OS) 3 lata od zakończenia leczenia II linii wynosi 60%, a 3-letnie przeżycie wolne od progresji choroby (PFS) wynosi 44%. Aktualnie 12 pts (75%) nadal żyje, w tym 6 pts w CR, 4 pts (25%) zmarło; 3 z powodu progresji choroby, 1 z powodów kardiologicznych.

Wnioski: Schemat BEACOPP jako leczenie drugiej linii wydaje się skuteczny, jak również bezpieczny u pacjentów z HL. Ewentualna dalsza ocena wymaga badań prospektywnych.

P4. SKUTECZNOŚĆ SCHEMATU BEACOPP U PACJENTÓW Z CHŁONIAKIEM HODGKINA JAKO TERAPII DRUGIEJ LINII, PRZED PROCEDURĄ AUTOLOGICZNEGO PRZESZCZEPIENIA MACIERZYSTYCH KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH, PO NIEPOWODZENIU LECZENIA ABVD

A. Kopińska, A. Kocłęga, A. Armatys,
M. Panz-Klapuch, M. Markiewicz

Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Katowice

P5. STĘŻENIE CHEMOKINY REGULOWANEJ PRZEZ AKTYWACJĘ I GRASICĘ (TARC) U CHORYCH NA CHŁONIAKA HODGKINA – WYNIKI WSTĘPNE

A. Kopińska¹, A. Kocłęga¹, T. Francuz², G. Helbig¹

¹Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Katowice

²Katedra i Zakład Biochemii, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Wstęp: Chłoniak Hodgkina (HL) jest potencjalnie uleczalnym nowotworem hematologicznym, jednak u ok. 20% pacjentów (pts) nie udaje się uzyskać wyleczenia. Dotychczas nie zdefiniowano czynników, które pozwolą przewidzieć odpowiedź na leczenie. Chemokina regulowana przez aktywację i grasicę (*thymus and activation regulated chemokine* – TARC) jest białkiem, którego wysoką ekspresję wykazano na powierzchni komórek Reed-Sternberga. Dotychczasowe badania wskazują, że stężenie TARC w surowicy jest istotnie zwiększone u chorych z HL w momencie rozpoznania w porównaniu ze stężeniem u osób zdrowych i może stanowić potencjalny czynnik predykcyjny odpowiedzi na leczenie.

Cel: Celem badania była ocena stężenia TARC u pts z HL otrzymujących schemat ABVD (adriblastyna, bleomycyna, winblastyna, dakarbazyna).

Materiał i metody: W latach 2010–2016 do badania włączono 19 pts (74% kobiet) z rozpoznaniem HL (NS 79% $n = 15$, MC 21% $n = 4$). Mediana wieku w momencie diagnozy wynosiła 24 lata (zakres 20–70). Zaawansowanie choroby według klasyfikacji Ann Arbor: II ($n = 12$; 63%), III ($n = 3$; 16%), IV ($n = 4$; 21%). Objawy ogólne prezentowało 8 pts, tj. 42%. U wszystkich pts przed rozpoczęciem terapii, jak również po dwóch cyklach chemioterapii wykonano badanie PET-CT. Oznaczenie stężenia TARC wykonano przed zastosowaniem chemioterapii, jak również po dwóch cyklach leczenia w momencie wstępnej oceny PET (Interim PET). Dodatkowo oznaczono stężenie TARC u 20 zdrowych ochotników. Oznaczenia zostały wykonane metodą ELISA zgodnie z zaleceniami producenta testu (R&D System, Wiesbaden, Niemcy).

Wyniki: W kontrolnym badaniu PET-CT po dwóch cyklach chemioterapii uzyskano następujące wyniki: 7 pts (37%) uzyskało całkowitą remisję (CR), a 12 chorych (63%) uzyskało częściową odpowiedź (PR). Średnie stężenie TARC przed leczeniem wyniosło $5133 (\pm 2083 \text{ ng/ml})$ i było istotnie zwiększone w porównaniu z grupą kontrolną: $937 (\pm 56,4 \text{ ng/ml})$; $p < 0,001$. Po dwóch cyklach średnie stężenie TARC w surowicy wyniosło 282 ng/ml i było znamienne statystycznie zmniejszone niż w momencie diagnozy ($418,9 \pm 295,7 \text{ ng/ml}$); $p = 0,003$. Dodatkowo wykazano, że stężenie TARC po 2 cyklach chemioterapii w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami było znamienne statystycznie zmniejszone ($418,9 \text{ vs } 282$), $p = 0,007$.

Wnioski: Stężenie TARC w surowicy ulega istotnemu zmniejszeniu po leczeniu ABVD u chorych z HL. Ewentualne znaczenie rokownicze stężenia TARC w surowicy wymaga dalszych badań.

P6. TRUDNOŚCI DIAGNOSTYCZNE W ROZPOZNANIU PODTYPU LD CHŁONIAKA HODGKINA U 33-LETNIEGO MĘŻCZYZNY – OPIS PRZYPADKU

A. Barchnicka¹, S. Grosicki², E. Bodzenta³, J. Pająk⁴

¹Studium Doktoranckie, Wydział Zdrowia Publicznego, Śląski Uniwersytet Zdrowia Publicznego w Katowicach

²Zakład Profilaktyki Chorób Nowotworowych, Wydział Zdrowia Publicznego, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

³Oddział Hematologiczny, SP ZOZ Zespół Szpitali Miejskich w Chorzowie

⁴Katedra i Zakład Patomorfologii, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Wstęp: Chłoniak Hodgkina należy do chorób nowotworowych układu chłonnego. Rozpoznanie opiera się na ocenie histopatologicznej i klinicznej. Chorobę cechuje zazwyczaj obecność komórek Reed-Sternberga oraz dużych komórek Hodgkina, które stymulują powstanie nacieku ziarniczego złożonego z komórek układu chłonnego. Rozróżnia się 4 podtypy histologiczne chłoniaka Hodgkina, które mogą różnić się przebiegiem klinicznym oraz rokowaniem.

Cel: Celem pracy jest prezentacja przypadku chłoniaka Hodgkina u 33-letniego chorego.

Materiał i metody: W wywiadzie w styczniu 2014 r. pacjent został przyjęty do Oddziału Wewnętrzny z powodu trwających od miesiąca dolegliwości: bólu brzucha, wysokiej gorączki oraz utraty masy ciała. W badaniu TK stwierdzono obecność olbrzymich pakietów węzłów chłonnych w śródpierściu, jamie brzusznej oraz organomegalię. Wykonano biopsję chirurgiczną węzła chłonnego nadobojczykowego. Wstępny wynik badania histopat. wskazywał na ziarnicę zapalenie węzłów chłonnych. Diagnostykę kontynuowano w naszym Oddziale Hematologicznym. W badaniu fizykalnym, oprócz obwodowej limfadenopatii i organomegalii, stwierdzono drobnogrudekową wysypkę na plecach. Laboratoryjnie stwierdzono umiarkowaną anemię, podwyższone stężenie LDH oraz bilirubiny. Wykonano trepanobiopsję. Konsultacja preparatów węzła chłonnego ponownie nie wykazała zmian nowotworowych. W oczekiwaniu na wynik trepanobiopsji przeprowadzono diagnostykę wykluczającą tło zakaźne. Podjęto decyzję o pobraniu węzła chłonnego ze śródpiercia. W trepanobiopsji opisano gęsty nacieki z atypowych komórek histiocytarnych i nielicznych komórek z wyraźnymi jąderkami – obraz mogący odpowiadać naciekowi szpiku przez mięsaka histiocytarnego lub chłoniaka Hodgkina.

Na podstawie badania hist.-pat. węzłów przytchawiczych ostatecznie rozpoznano podtyp LD chłoniaka Hodgkina. Dokonano jeszcze raz oceny preparatów węzła nadobojczykowego, co potwierdziło rozpoznanie. U chorego wdrożono leczenie ABVD, uzyskując szybką poprawę stanu klinicznego. W związku z obecnością zmian resztkowych w PET chory otrzymał leczenie II linii, następnie został poddany autotransplantacji szpiku. Od dwóch lat pozostaje w całkowitej remisji.

Wyniki i wnioski: Podtyp LD należy do rzadszych postaci choroby Hodgkina, występuje głównie u osób starszych lub w przebiegu zakażenia HIV. Przebieg kliniczny jest bardziej agresywny. Opisany przypadek pokazuje, jak ważna jest wnikliwa diagnostyka i ocena histopatologiczna wykonana przez doświadczonego patologa.

TRANSFUZJOLOGIA 1 – TRANSFUZJOLOGIA KLINICZNA

PRZEWODNICZĄCY: M. ŁĘTOWSKA
(WARSZAWA), J. KORSK (WARSZAWA)

Doniesienia ustne

ANALIZA POWAŻNYCH NIEPOŻĄDANYCH ZDARZEŃ I POWAŻNYCH NIEPOŻĄDANYCH REAKCJI POPRZETOCZENIOWYCH W POLSCE W LATACH 2011–2014

prof. Ryszard Pogłód, dr Aleksandra Rosiek,
dr Elżbieta Lachert, prof. Piotr Grabarczyk,
dr Bogumiła Michalewska, prof. Magdalena Łętowska

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Przetoczenie krwi jest efektem wieloetapowego procesu obciążonego ryzykiem popełnienia błędów. Jest także zabiegiem medycznym o nieusuwalnym ryzyku wskutek interakcji pomiędzy interwencją medyczną a organizmem biorcy.

Cel: Ustalenie rodzaju, częstości i przyczyn poważnych zdarzeń niepożądanych (PZN) związanych z przetoczeniem składników krwi i poważnych niepożądanych reakcji poprzetoczeniowych (PNRP) u biorców składników krwi.

Materiał i metody: Analiza retrospektywna. Materiał stanowiły zgłoszenia PZN i PNRP oraz dokumentacja uzupełniająca nadesłane do IHiT przez centra krwiodawstwa i krwiolecznictwa (CKiK) w Polsce w okresie 2011–2014.

Wyniki: Przeanalizowano 72 kompletne zgłoszenia. Najczęściej, tj. w 51 przypadkach, zgłaszanym PZN było obcogrupowe przetoczenie składnika krwi; w 47 niezgodność dotyczyła układu ABO, w 1 – RhD, a w 3 – innych układów grupowych. Ostra reakcja hemolityczna

wystąpiła wyłącznie po przetoczeniu KKCz (w 14 na 28 przypadków i w 2 skutkowało zgonem), natomiast nie wystąpiła w przypadkach przetoczenia obcogrupowego FFP (19) i KKP (4). Niezgodne grupowo przetoczenie składnika krwi było zawsze skutkiem błędu ludzkiego, a często – nałożenia kilku błędów. Najczęściej miało miejsce na oddziale szpitalnym. Było skutkiem nieprzeprowadzenia identyfikacji przy łóżku chorego i w większości przypadków (26) – nieobecności lekarza przy identyfikacji. Zdecydowanie rzadziej (9 przypadków) wynikało z innych błędów, takich jak: błędna identyfikacja próbki krwi do badania grupy krwi (1), nieprawidłowe oznaczenie grupy krwi w pracowni serologii (2), niewykrycie przeciwciał odpornościowych (2), umieszczenie etykiety z nieprawidłową grupą krwi w CKiK (1) oraz przetoczenie FFP grupy O błędnie traktowanego jako „osocze uniwersalne” (3). Oprócz obcogrupowych przetoczeń składników krwi zgłoszono 21 PNRP o innej etiologii, w tym TRALI (6), TACO (5), reakcję anafilaktyczną (3), FNTHR (2), sepsę (2), TAD (1) oraz inne (2). W 15 na 72 przypadków PZN/PNRP w trakcie obserwacji pacjenta wystąpił zgon, ale jedynie w 3 (2 przypadki ostrej hemolizy i 1 TRALI) miał on związek z przetoczeniem składnika krwi. Najczęściej sprawozdawano PNRP po przetoczeniu KKCz (17), następnie FFP (10) i KKP (1).

Wnioski: Zdecydowaną większość (70,8%) zgłoszeń PZN/PRP stanowiło obcogrupowe przetoczenie składnika krwi, które wynikało z błędu ludzkiego. Wskazuje to na konieczność ciągłego szkolenia personelu medycznego i ścisłego przestrzegania procedur związanych z krwiolecznictwem.

SYSTEM BADAŃ PRZEGLĄDOWYCH ANTYGENU HPA-1A DLA IDENTYFIKACJI CIĄŻ ZAGROŻONYCH RYZYKIEM ALLOIMMUNOLOGICZNEJ MAŁOPŁYTKOWOŚCI PŁODÓW I NOWORODKÓW Z POWODU PRZECIWCIAŁ ANTY-HPA-1A

dr n. biol. Katarzyna Guz¹, Agnieszka Gierszon¹,
dr n. biol. Agnieszka Orzińska¹,
Małgorzata Uhrynowska¹, Patrycja Łopacz¹,
Marzena Dębska², Izabella Kopeć¹, Ewa Brojer¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

Wstęp: Badania antygenu HPA-1a u kobiet w ciąży służą wyłanianiu matek HPA-1a-ujemnych z ryzykiem wytworzenia przeciwciał anty-HPA-1a, które są najczęstszą przyczyną alloimmunologicznej małopłytkowości płodu/novorodka (AIMP/N). AIMP/N występuje z częstością 1/1000–2000 urodzeń, a u 1/12 500 dzieci dochodzi do wylewu do ośrodkowego układu nerwowego.

wego (1/12 500), co może prowadzić do śmierci lub niepełnosprawności.

Cel: Przedstawienie systemu i wyników badań przeglądowych antygeny HPA-1a u kobiet w ciąży wdrożonego w ramach programu PREVFNAIT.

Materiał i metody: Próbkę krwi (4–5 ml na EDTA) od 24 259 kobiet w ciąży pobierano w 260 punktach na terenie całej Polski i dostarczano do IHiT. Badania HPA-1a wykonywano metodą serologiczną (FACS wg Killle i wsp.) lub molekularną (RQ-PCR wg Fičko i wsp.). Wybór metody zależał od czasu dostarczenia (FACS ≤ 7 dni; RQ-PCR > 7 dni). Badania FACS wykonywano manualnie (cytometr Canto II, BD) lub automatycznie (pipetor MagNA STARlet, Hamilton; przystawka HTS do Canto II) z osocza bogatopłytkowego (PRP). DNA izolowano z krwi na płytkach 96-dołkowych zestawem Genomic Mini AX BLOOD 96-well Kit lub Chemagic DNA Blood Kit LH na pipetorze Janus (Perkin-Elmer). Wyniki fenotypowe HPA-1a-ujemne uzyskane metodą automatyczną weryfikowano metodą manualną, a następnie potwierdzano metodą molekularną. Wyniki genetyczne HPA-1bb weryfikowano metodą FACS z kolejnego pobrania krwi.

Wyniki: 1. Po zbadaniu 24 259 kobiet zidentyfikowano 598 (2,4%) kobiet o fenotypie HPA-1a-ujemnym (420) lub genotypie HPA-1bb (178). Metodą FACS oznaczono 71% kobiet (17 224/24 259), a genetyczną – 7036/24 259 kobiet. 2. Weryfikacja manualna i genetyczna wyników HPA-1a-ujemnych z automatycznego oznaczania antygeny HPA-1a była przydatna w 2,3% próbek, w których metodą automatyczną uzyskano wyniki fałszywie HPA-1a-ujemne z powodu silniej hemolizy próbki lub zbyt niskiej liczby płytek krwi w PRP. 3. Odsetek HPA-1a-ujemnych zidentyfikowanych metodą genetyczną i serologiczną był zbliżony. 4. Przyjęty algorytm potwierdził zgodność wyników fenotypowania i genotypowania u wszystkich kobiet prócz dwóch, u których fenotyp był HPA-1a-ujemny, a genotyp HPA-1a/b (patrz Ahlen i wsp.).

Wnioski: 1. Automatyzacja badań antygeny HPA-1a umożliwia oznaczania na dużą skalę i identyfikację kobiet z ryzykiem konfliktu płytkowego HPA-1a, które stanowią ~2,4% populacji polskiej. 2. Kobiety HPA-1a-ujemne muszą być objęte dalszymi badaniami w celu oceny ryzyka immunizacji, tak by te z przeciwciałami anti-HPA-1a kierować do leczenia w ośrodku specjalistycznym.

Plakaty

P1. ZASTOSOWANIE AUTOLOGICZNYCH SZTUCZNYCH ŁEZ U 8-LETNIEJ DZIEWCZYNKI Z WIOSENNYM ZAPALENIEM SPOJÓWEK

dr Jolanta Antoniewicz-Papis¹, lek. Alina Szajkowska², lek. Monika Grzegorek¹, dr hab. med. Paweł Łaguna³, prof. Magdalena Łętowska¹

¹Institut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Klinika Okulistyki, Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie

³Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Wiosenne zapalenie spojówek i rogówki jest przewlekłą, nawracającą, obustronną chorobą zapalną zewnętrznych części oka. Dotyczy głównie dzieci i młodych dorosłych, częściej występuje u chłopców. Choroba objawia się świądem oka, światłowstrętem, łzawieniem, uczuciem ciała obcego. W ciężkich przypadkach dochodzi do rozlanego przerostu brodawek głównie powieki górnej, pęknięcia przegród łącznotkankowych i pojawienia się brodawek olbrzymich, które dodatkowo mechanicznie uszkadzają rogówkę. Owrzodzenie rogówki jest poważnym powikłaniem wiosennego zapalenia spojówek i rogówki prowadzącym do bliznowacenia, neowaskularyzacji rogówki, rzadziej do perforacji. W leczeniu wiosennego zapalenia spojówki i rogówki stosowane są steroidy, stabilizatory mastocytów, leki przeciwhistaminowe, leki immunosupresyjne (cyklosporyna), sztuczne łzy, opatrunki z soczewek kontaktowych, krioterapia lub chirurgiczne usuwanie brodawek. Przedstawiamy przypadek 8-letniej dziewczynki i zastosowania sztucznych łez w owrzodzeniu rogówki, u której wcześniej leczono je klasycznymi metodami.

Cel: Celem pracy jest przedstawienie naszych doświadczeń z zastosowaniem sztucznych łez w przypadkach okulistycznych.

Materiał i metody: Pobrano 20 ml krwi autologicznej na skrzep do sterylnej pojemnika transferowego jednorazowego użytku, stosowanego do rutynowej preparatyki składników krwi. Pobraną krew umieszczono w cieplarni w temperaturze 37°C na okres 1 godziny w celu wykrzepienia. Następnie preparat wirowano (13 min, 22°C, 3100 x g) i przy użyciu prasy ekstrakcyjnej oddzielono warstwę surowicy zawierającą domieszkę erytrocytów. Oddzieloną surowicę ponownie wirowano (5 min, 22°C, 2000 x g) w celu uzyskania surowicy niezawierającej elementów komórkowych. Następnie preparat podzielono na porcje o objętości ok. 0,3 ml umieszczonych w pojedynczych kapsułkach. Uzyskane tą metodą łzy podawano dziewczynce 8 razy na dobę do oka lewego.

Wyniki: Po 4 tygodniach leczenia nastąpiło wygojenie owrzodzenia. Zmniejszono dawkowanie kropli 4 razy dziennie do oka lewego. Po kolejnych 8 tygodniach obserwacji nie stwierdzono nawrotu owrzodzenia rogówki.

Wnioski: Zastosowanie sztucznych łez w okulistyce jest metodą skuteczną i bezpieczną u dzieci.

Introduction: Vernal keratoconjunctivitis is a chronic, recurrent bilateral inflammation of the outer ocular layer. Mostly affected are children and young people and the condition is more common in boys. The disease presents with eye pruritus (itching eye), photophobia (sensitivity to bright light), excessive tearing and foreign eye syndrome. Severe cases manifest with diffusion of overgrown papillae usually of the upper eyelid, bursting of the connective tissue barriers and appearance of giant papillae that press on the cornea. Corneal ulceration is a severe complication of vernal keratoconjunctivitis that may induce scarring, corneal neovascularization and occasionally perforation. Treatment of keratoconjunctivitis mainly relies on steroids, mast cell stabilizers, antihistamines, immunosuppressive drugs (cyclosporine), artificial tears, contact lense-dressing, cryotherapy and surgical papillae removal. We present the case of a 8 year-old girl with corneal ulceration who was applied artificial tears after traditional methods of treatment proved unsuccessful.

Aim: The aim was to share our experience on artificial tears therapy applied in ophthalmic disorders.

Material and methods: Autologous blood (20 ml) was collected into disposable, sterile transfer bags used for routine blood component preparation (no anticoagulant) and incubated for 1 hour at 37°C. The clot was then removed by centrifugation (13 min, 22°C, 3100 x g) and the serum containing erythrocytes was press extracted. Centrifugation was applied again (5 min, 22°C, 2000 x g) to obtain serum free of cellular components. The serum was then divided into 0.3 ml segments (capsules) and the artificial tears applied to the left eye 8 x daily.

Results: Ulcer healing was reported after 4 weeks of therapy with artificial tears. The dosage was reduced to 4 x daily. No recurrence of corneal ulceration was observed after subsequent 8 weeks.

Conclusions: Artificial tears are a safe and effective therapy for ophthalmic disorders in children.

P2. HISTORY OF BLOOD DONATION FACILITATES LATER MOBILIZATION OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS WITH G-CSF

Katarzyna Pruszczyk, dr hab. n. med. Emilian Snarski, Royia Fahran, Dominika Cwil, Krzysztof Bartnik, Aleksandra Jastrzębska, Kamila Skwierawska, Elżbieta Urbanowska, Wiesław Wiktor Jędrzejczak

Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Introduction: Many of the volunteer blood donors register as unrelated hematopoietic stem cell donors. Blood donor's hematopoiesis regularly has to compensate for blood losses caused by blood donation- regeneration happens due to increased frequency of hematopoietic stem cells' (HSC) mitosis. There is no data on the influence of such repeated stimulation on efficiency of later hematopoietic stem cell mobilization by G-CSF.

Aim: We aimed to analyze outcome of HSC mobilization in unrelated donors who had history of blood donations.

Material and methods: We conducted prospective study on 213 consecutive donors admitted to the Department of Hematology since 01.2016. The donors had to fill study questionnaire during the final qualification for donation. The final analysis included 101 donors who agreed to take part in the study and had undergone stem cell mobilization with G-CSF. Median age of the donors was 28 years (range 18-50). 63 (62.4%) were male and 38 (37.6%) were female. Median BMI was 24.38 (range 17.02-36.25). 34 (33.7%) used to donate blood in the past.

Results: 36/79 (45.57%) blood donors in our cohort were qualified for HSC mobilization, as compared to 70/134 (52.23%) of non-blood donors ($p = 0.3954$). HSC mobilization efficiency (number of CD34+ cells/kg of recipient's body mass) was correlated with donor's BMI ($p = 0.0002$), sex ($p = 0.0003$) and history of prior blood donation (0.0217). Median number of CD34+ cells/kg of recipient's body mass for blood donors was 8.325 (range 3-43.94), for the rest of our cohort 6.15 (range 1.14-25.86). 88% of all donors needed one apheresis for collection HSC. Number of infections with fever/year correlated positively with the need of second leukaphereses ($p = 0.0136$).

Conclusions: Donors sex and weight are known factors facilitating mobilization of stem cells. We report here two new factors influencing the stem cell harvests: history of blood donations which improves results of HSC mobilization and history of common infections which correlates with poorer stem cell harvests.

P3. BONE MARROW HARVEST FROM UNRELATED DONORS WITH ANEMIA

Katarzyna Pruszczyk¹, Kamila Skwierawska¹, dr hab. n. med. Emilian Snarski¹, Małgorzata Król¹, Albert Moskowicz¹, Dariusz Jabłoński², Elżbieta Urbanowska¹, Wiesław Wiktor Jędrzejczak¹

¹Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Samodzielny Publiczny Centralny Szpital Kliniczny w Warszawie

Introduction: Bone marrow harvesting is one of the essential sources of stem cells for hematopoi-

etic stem cell transplantation. The technique has been introduced in Poland in 1984 by Jędrzejczak and Pojda, and since then has evolved including multiple steps assuring safety and efficiency. The donors with mild anemia can be qualified for harvest – however little is known on results of harvests in this group.

Aim: We describe here the current “up to date” standard of the bone marrow harvest in unrelated stem cell donors with emphasis on impact of anemia prior to procedure on harvest quality and impact of bone marrow harvest on anemia after the procedure.

Material and methods: We analyzed medical data of 187 unrelated hematopoietic stem cell donors who underwent bone marrow harvest without previous peripheral blood stem collection at the center between 2011 and 2015. The target maximum volumes of harvested marrow were 20 ml per kg of the donor.

Results: The total nucleated cell (TNC) collection reached recommended level ($> 2 \times 10^8$ per kg of recipient) in 93.2% of harvests. All of the donors harvested more than 1×10^8 per kg of the recipient. There were no donors who required transfusions or had serious adverse events during and after the harvest. Hemoglobin concentration decreased a median of 2.5 (0.4-4.8) after the donation. The hemoglobin levels prior to donation had no effect on anemization after donation and on collected TNC/kg of the recipient. Donors who had mild anemia prior to bone marrow harvest had similar collected TNC to donors without anemia (139 (10.43-310.6) vs. 154.4 (56.05-346.5), $p = 0.62$) after similar volume of the marrow per kg of weight has been harvested in both groups (16.34 (7.869-22.18) vs. 16.69 (4.165-25.65), $p = 0.9860$). There was no donor that need blood transfusion after the bone marrow harvest – regardless of the hemoglobin concentration prior to harvest.

Conclusions: The bone marrow harvests in donors with mild anemia is safe and does not differ from the rest of the donors. The bone marrow harvest despite causing significant decrease in hemoglobin levels does not result in need for autologous or allogenic blood transfusion in donor.

P4. NIESTANDARDOWE ZASTOSOWANIE KRWINEK PŁYTKOWYCH

dr Dorota Król, mgr Anna Mazur-Stańko,
mgr Jolanta Żyła, lek. med. Bożena Drybańska,
dr Stanisław Dyląg

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecництва
w Katowicach

Wstęp: Koncentraty krwinek płytkowych są często stosowanym składnikiem krwi w różnych stanach chorobowych związanych z niedoborem lub dysfunkcją krwinek płytkowych. Ponadto krwinki płytkowe są

źródłem substancji biologicznie czynnych – czynników wzrostu, które są przedmiotem badań od prawie trzydziestu lat. Obserwowany jest wzrost zapotrzebowania na autologiczne zagęszczone krwinki płytkowe w celu zastosowania ich w schorzeniach narządu ruchu, medycynie estetycznej, chirurgii, stomatologii.

Cel: Przedstawienie specyfikacji autologicznych zagęszczonych krwinek płytkowych jako składnika krwi wykonywanego na zlecenie, dla potrzeb innych niż transfuzja.

Materiał i metody: Autologiczne, zagęszczone krwinki płytkowe są pozyskiwane z krwi pełnej od pacjenta zakwalifikowanego do pobrania donacji autologicznej. Pobierane jest 350 ml krwi, z której przygotowany jest zagęszczony składnik krwi o objętości 20 ml zawierający krwinki płytkowe zawieszone w osoczu. Analizowano 57 preparatów pozyskanych z donacji autologicznych od stycznia do maja 2017 r.

Wyniki: Zagęszczone krwinki płytkowe do celów terapii pozyskiwano od pacjentów z poziomem krwinek płytkowych od $138 \times 10^3/\mu\text{L}$ do $427 \times 10^3/\mu\text{L}$, średnia liczba krwinek płytkowych wynosiła $252 \pm 58 \times 10^3/\mu\text{L}$. W zagęszczonym preparacie uzyskano liczbę krwinek płytkowych od $1073 \times 10^3/\mu\text{L}$ do $5386 \times 10^3/\mu\text{L}$, średnia liczba krwinek płytkowych w preparacie wynosiła $2288 \pm 831 \times 10^3/\mu\text{L}$. W przygotowanych autologicznych preparatach uzyskano dziewięciokrotnie wyższe zagęszczenie krwinek płytkowych, co wpłynęło na średnią zawartość krwinek płytkowych w jednej jednostce preparatu na poziomie $0,46 \pm 0,17 \times 10^{11}$.

Wnioski: Zastosowanie w terapii wysokoskondensowanych krwinek płytkowych zdaje się być dodatkowym sposobem pomagającym w leczeniu chorób związanych z narządem ruchu, np. w ortopedii, medycynie sportowej. Zaletą zastosowania autologicznych zagęszczonych preparatów jest niewątpliwie zmniejszenie ryzyka transmisji chorób wirusowych czy reakcji alergicznych.

Introduction: Platelet concentrates are a frequently used blood component in various diseases associated with deficiency or dysfunction of platelets. Moreover platelets are a source of biologically active substances – growth factors which are in the center of interest for almost thirty years. We have observed the increasing need for autologous concentrated platelets used in musculoskeletal system disease, aesthetic medicine, surgery, stomatology.

Aim: To present specifications of the autologous concentrated platelets as an ordered blood component for purposes other than transfusions.

Material and methods: Autologous concentrated platelets are collected from whole blood of a patient qualified for autologous donation. 300 ml of whole blood is taken and prepared to reach the concentrated blood component which has volume of 20 ml containing platelets suspended in plasma. We have studied 57

samples received from autologous donations which were collected from January to May 2017.

Results: Concentrated platelets for therapy were collected from patients with platelet count ranging from $138 \times 10^3/\mu\text{L}$ to $427 \times 10^3/\mu\text{L}$, the mean platelet count was $252 \pm 58 \times 10^3/\mu\text{L}$. In the concentrated component, platelet counts were amounted from $1073 \times 10^3/\mu\text{L}$ to $5386 \times 10^3/\mu\text{L}$, mean platelet counts were $2288 \pm 831 \times 10^3/\mu\text{L}$. In the prepared autologous components, we have received ninefold concentration of platelets which has affected to the mean blood cell count in one unit at level 0.46×10^{11} .

Conclusions: Use in the therapy highly concentrated platelets seems to be an additional way which help to solve problems in treatment e.g.: diseases in orthopedics or in sports medicine. The advantage of using autologous components is undoubtedly decrease the risk of transmission viral diseases or allergic reactions.

P5. OCENA DOSTĘPNOŚCI KONCENTRATÓW KRWINEK PŁYTKOWYCH OD DAWCÓW O OZNACZONYCH ANTYGENACH HLA I HPA DLA CHORYCH ZIMMUNIZOWANYCH

dr Katarzyna Guz¹, Patrycja Łopacz¹, Agnieszka Gierszon¹, Magdalena Ołdak¹, dr Agnieszka Orzińska¹, dr Małgorzata Uhrzynowska¹, 21 CKiK², prof. dr hab. Krystyna Maślanka¹, prof. dr hab. Ewa Brojer¹, prof. dr hab. Magdalena Łętowska¹, prof. dr hab. Magdalena Łętowska³

¹Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²CKiK w Białymstoku, Bydgoszczy, Gdańsku, Kielcach, Kaliszu, Krakowie, Katowicach, Lublinie, Łodzi, Olsztynie, Opolu, Poznaniu, Radomiu, Raciborzu, Rzeszowie, Słupsku, Szczecinie, Wałbrzychu, Warszawie, Wrocławiu i Zielonej Górze

³Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Skuteczność transfuzji koncentratów krwi- nek płytkowych (KKP) u chorych z przeciwciałami do antygenów HLA (*human leukocyte antigens*) i/lub HPA (*human platelet antigens*) można zwiększyć, stosując przetoczenia KKP od dawców dobieranych na podstawie zgodności w antygenach HLA i/lub HPA. Szczególną grupę biorców KKP stanowią noworodki z alloimmunologiczną małopłytkowością płodowo-noworodkową (AIMPN) spowodowaną przeciwciałami do antygenów płytek krwi (zwłaszcza HPA-1a). W większości krajów wysoko rozwiniętych dla chorych zimmunizowanych istnieje możliwość doboru dawców KKP o oznaczonych antygenach HLA i HPA z rejestrów dawców.

Cel: Celem pracy była ocena zapotrzebowania na KKP i dostępności dawców z określonym genotypem/fenotypem HLA i/lub HPA w Polsce.

Materiał i metody: Ankieta o zapotrzebowaniu na dobierane KKP i dostępności dawców z oznaczonymi HLA i/lub HPA w okresie 01.2015-07.2016 została roz- słana do 23 centrów krwiodawstwa i krwiolecznictwa (CKiK). Analizy dokonano w ramach realizacji zadań IHiT (art. 25) Ustawy o publicznej służbie krwi z dnia 22.08.1997 r. Dz.U. Nr 106, poz. 681 z późn.zm. 1. Ankiety odesłało 21 z 23 CKiK; zapotrzebowania na KKP od dawców z oznaczonymi HLA lub/i HPA ze szpitali zgłoszono do 7/21 (33,3%) CKiK. 2. W skali całego kraju w ciągu 1,5 roku przygotowano: 1788 KKP dla chorych z przeciwciałami anti-HLA, 63 KKP dla chorych z anti-HPA, 58 KKP dla chorych z anti-HLA i anti-HPA; dla no- worodków z AIMPN przygotowano: 35 KKP dobranych na podstawie zgodności w antygenach HPA między matką a dawcą i 176 KKP od dawców przypadkowych. 3. W 13/21 (61,9%) CKiK dobór dawców KKP odbywa się głównie na podstawie próby krzyżowej w teście lim- focyto toksycznym, co jest nieskuteczne przy obecności wieloswoistych przeciwciał anti-HLA lub przeciwciał anti-HLA niewiążących dopełniacza, wykrywanych w te- stach fazy stałej. 4. Rejestry dawców z oznaczonymi antygenami HLA klasy I dostępne w CKiK liczą 12 885 osób, u 417 zbadano antygeny HPA. 5. Rejestr dawców z oznaczonymi antygenami HPA dostępny jest w IHiT i niektórych CKiK. 6. W skali kraju do przetoczeń dla chorych z przeciwciałami anti-HPA-1a dostępnych jest 133 dawców, wyłonionych z 5872 dawców.

Wyniki i wnioski: W Polsce liczba dawców o ozna- czonych antygenach HPA/HLA jest niewystarczająca. Zapotrzebowanie na takich dawców ciągle rośnie, po- nieważ diagnostykę AIMPN oprócz IHiT wdrożyły tak- że laboratoria CKiK. Jednym z wyzwań krwiodawstwa w Polsce powinno stać się zabezpieczenie dostępności dawców KKP przeznaczonych dla chorych uodpornio- nych.

P6. ZNACZENIE BADAŃ SEROLOGICZNYCH, GENETYCZNYCH I ULTRASONOGRAFICZNYCH W DIAGNOSTYCE I MONITOROWANIU KONFLIKTU SEROLOGICZNEGO

dr n. med. Izabella Kopeć¹, dr n. med. Małgorzata Uhrzynowska¹, dr n. med. Katarzyna Luterek², mgr Magdalena Michalik¹, dr n. farm. Bogumiła Michalewska¹, dr n. biol. Agnieszka Orzińska¹, prof. dr hab. n. med. Mirosław Wielgoś², prof. dr hab. n. biol. Ewa Brojer¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Uniwersyteckie Centrum Zdrowia Kobiety i Noworodka, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Przeciwciała (pc) do antygenów krwinek czerwonych występują w przebiegu 1 na 300–600 ciąż.

Cel: Celem pracy była próba odpowiedzi, czy nieinwazyjne ustalenie genotypu płodu i ocena dopplerowska szybkości przepływu krwi w tętnicy centralnej mózgu płodu (*multiples of median* – MoM) zmieniają dotychczasowy sposób postępowania serologicznego.

Materiał i metody: Analizowano 413 ciąż u 354 kobiet z pc do antygenów krwinki czerwonej. U wszystkich regularnie monitorowano swoistość i miano pc, a u 119 kobiet metodą nieinwazyjną oceniono, czy płód nosi antygen, w stosunku do którego skierowane są pc (RHD, RHCE**C*, RHC**E*, KEL**O1*). Wszystkie pacjentki z konfliktem kierowano do ośrodka położniczego, w którym wykonywano badania dopplerowskie.

Wyniki: Swoistość wykrytych pc: anty-D-96, anty-D/C/E-77, anty-E-58, anty-K-28, anty-M-81, anty-Kpb-1, anty-LWa-1, inne/wieloswoiste – 73 przypadki. Obecność pc anty-D w 3 przypadkach pochodziła z zastosowanej w czasie ciąży immunoprofilaktyki. Pc o dodatkowej swoistości wytworzyło 15 pacjentek (4%), w tym 11 po porodzie i w 1 przypadku po immunoprofilaktyce śródciażowej. Wzrost miana pc obserwowano w 127 przypadkach; w 12 (9,4%) poprzedzał on wzrost MoM > 1,5. Badanie genetyczne w 11/119 (9%) przypadkach wykłużyło obecność niezgodnego antygeny, a tym samym ryzyko choroby hemolitycznej. Wykonanie transfuzji dopłodowych konieczne było w przebiegu 19 ciąż (MoM > 1,5). W 1 przypadku alloimmunizacji do antygeny powszechnego (Kpb) z uwagi na brak dawcy niespokrewnionego wykorzystano krew matki do transfuzji dopłodowej, w drugim przypadku (anty-LWa) nie było konieczności transfuzji.

Wnioski: Badania serologiczne, genetyczne i dopplerowskie wzajemnie się uzupełniają. Wykluczenie obecności genu kodującego antygen, w stosunku do którego są skierowane pc, jak i zastosowanie profilaktyki śródciażowej nie zwalniają z kontroli serologicznej i badania dopplerowskiego z uwagi na ryzyko immunizacji innym antygenem. Do wytworzenia pc o dodatkowej swoistości może dojść w okresie okołoporodowym, stąd wskazana jest kontrola serologiczna po porodzie. W przypadku alloimmunizacji do antygeny powszechnych istnieją trudności w doborze krwi od dawcy niespokrewnionego zarówno w przypadku konieczności transfuzji u kobiety, jak i dopłodowej. Niezwłocznie po identyfikacji pc należy wstąpić poszukiwania dawcy rodzinnego i niespokrewnionego w rejestrach lokalnych i światowych, a także rozważyć wykorzystanie krwi matki do transfuzji dopłodowej.

P7. TRENDY W ZAKRESIE TRANSFUZJI SKŁADNIKÓW KRWI

dr Małgorzata Szymczyk-Nużka

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecництва
im. prof. dr hab. Tadeusza Dorobisza we Wrocławiu

Wstęp: Optymalizacja leczenia składnikami krwi jest sumą właściwych wskazań do transfuzji, prawidłowej gospodarki krwią, wykorzystania metod i leczenia krwiozastępczego.

Cel: Ocena wykorzystania składników krwi wobec programów optymalizacji i zarządzania krwią własną pacjenta. Wykazanie trendów w zakresie transfuzji składników krwi.

Materiał i metody: Oceniono w latach 2011–2016 trendy w gospodarce składnikami krwi w dużych podmiotach leczniczych, czyli poddano analizie zużycie KKCz, FFP, KKP. Jako duże szpitale zakwalifikowano podmioty, które przetwarzają przynajmniej 2000 jednostek KKCz rocznie.

Wyniki: W dużych podmiotach leczniczych w latach 2011–2012 utrzymywała się podobna liczba transfuzji KKCz. W 2013 r. wystąpił wzrost zapotrzebowania na ten składnik krwi, ale kolejne lata pokazują trend spadkowy przetoczeń KKCz. Na jednego pacjenta w 2016 r. przypadło w dużych szpitalach 1,62 j. KKCz w relacji do małych podmiotów leczniczych, gdzie pacjent dostawał przy jednej transfuzji 2,2 j. Liczba przetwarzanych jednostek FFP wzrastała do 2013 r., natomiast w kolejnych latach, 2014–2015, obserwowano spadek zużycia FFP o kilkanaście procent, a w 2016 r. spadek o ok. 5%. Trend wykorzystania zlewanego KKP był nierównomierny. W większości lat badanego okresu wzrastała liczba transfuzji KKP z aferezy. Ocena spadku w 2016 r. przetoczeń składników krwi (KKCz, FFP, zlewany KKP) została uzupełniona dodatkowymi kontrolami gospodarki krwią, które wykazały: nieużywanie rezerw KKCz wykorzystywanych później dla innych pacjentów, zmniejszenie zużycia składników krwi w wyniku większej liczby zabiegów niewymagających transfuzji, w tym zabiegów laparoskopowych, z użyciem sprzętu zmniejszającego krwawienie okołoperacyjne, endowaskularnego zabezpieczania tętniaków, większej liczby procedur z odzyskiwaniem krwi z pola operacyjnego lub pooperacyjnie, dostosowaniem się do procedur optymalnego wykorzystania krwi własnej pacjenta, przestrzeganiem wytycznych dotyczących progowego poziomu hemoglobiny lub płytek krwi wskazujących na konieczność transfuzji.

Wnioski: W szpitalach krew i jej składniki przetwarzane są zgodnie ze wskazaniami, w tym model restrykcyjnej transfuzji jest coraz bardziej widoczny w leczeniu składnikami krwi. Na liczbę przetoczeń mają wpływ szkolenia z optymalnego wykorzystywania krwi, prawidłowa gospodarka krwią w szpitalach. Śledzenie trendów w zakresie ilości przetwarzanych składników krwi w zależności od profilu szpitala i jego wielkości jest ważnym elementem krwiodawstwa i krwiolecництва.

P8. CZĘSTOŚĆ I ZASTOSOWANIE ROZMROŻONYCH KONCENTRATÓW KRWINEK PŁYTKOWYCH STOSOWANYCH W LECZNICTWIE

A. Mazur-Stańko, D. Król, B. Drybańska, S. Dyląg

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa,
Katowice

Wstęp: Mrożenie koncentratów krwinek płytkowych pozwala na zgromadzenie składników krwi o wydłużonym czasie ich przechowywania w stosunku do macierzystych składników krwi. Zastosowanie tej metody niewątpliwie ma wpływ na ich jakość w czasie przygotowywania koncentratów krwinek płytkowych po rozmrożeniu dla pacjenta. Trendy w zastosowaniu koncentratów krwinek płytkowych wzrastają już od lat, a mrożone krwinki płytkowe ułatwiają dostęp podmiotom leczniczym w kontynuowaniu terapii w sytuacjach np. czasowego braku tych składników krwi – świeżych, o konkretnych grupach krwi.

Cel: Określenie wpływu kriokonserwacji krwinek płytkowych na ich jakość i zastosowanie w lecznictwie.

Materiał i metody: Kriokonserwacji poddawane są krwinki płytkowe uzyskiwane z krwi pełnej lub metodą aferezy, do których dodawany jest środek kriochronny. Mrożone koncentraty krwinek płytkowych są przechowywane w temperaturze -80°C . Dokonano oceny 1815 jednostek rozmrożonych ubogoleukocytarnych koncentratów krwinek płytkowych (RUKKP), które zostały wykonane i przekazane do podmiotów leczniczych w latach 2011–2016.

Wyniki i wnioski: Średnia liczba krwinek płytkowych w RUKKP wynosiła: dla metody manualnej – $2,39 \times 10^{11}$, a dla metody automatycznej – $2,02 \times 10^{11}$. Średni odzysk w tych dwóch grupach wynosił odpowiednio 59,83% i 63%. Porównując liczbę produkowanych miesięcznie koncentratów krwinek płytkowych, odsetek mrożonych wynosił: 2,73% dla metody manualnej i 2,03% dla tromboaferezy. W latach 2011–2016 RUKKP stanowiły od 1% do 4% wszystkich wydanych koncentratów krwinek płytkowych. Koncentraty krwinek płytkowych poddane mrożeniu wykazują wysoką jakość pod względem ilości krwinek płytkowych w rozmrożonym składniku krwi, o czym świadczy zadowalający odzysk zarówno dla metody manualnej, jak i automatycznej pozyskiwania KKP. Nie wykazano jednak konkretnego zastosowania RUKKP, choć w publikacjach zagranicznych można je znaleźć w kardiologii czy w innych niewielkich zabiegach chirurgicznych. Głównym powodem stosowania tego rodzaju preparatu był brak dostępności świeżego koncentratu krwinek płytkowych. Od tego uzależniona była częstotliwość stosowania tych koncentratów, która zwiększała się w okresach świątecznych lub wakacyjnych, kiedy to ilość pobieranej krwi znacząco się zmniejszała.

Introduction: The freezing of platelet concentrates allows the accumulation of blood components with extended storage time in relation to the fresh blood components. The use of this method undoubtedly has an impact on their quality at the time of preparation platelet concentrates after thawing for the patient. Trends in the use of platelet concentrates have been increasing for years, and frozen platelets simplify access hospitals in such situations as: temporary lack of blood components – fresh with specific blood groups.

Aim: To determine the effect of platelets cryopreservation on their quality and usage in treatment.

Material and methods: Platelets, which are subjected to cryopreservation, are collected from whole blood or apheresis and to which a cryoprotectant is added. Frozen platelet concentrates are stored at -80°C . We have analyzed 1815 units of thawed leukoreduced platelets concentrates, which have been made and passed to hospitals from 2011 to 2016.

Results and conclusions: Mean quantity of platelets in frozen platelets concentrates was: for the manual method – 2.39×10^{11} and for the automatic method – 2.02×10^{11} . The mean recovery in these two groups was: 59.83% and 63%, respectively. Comparing the number of monthly produced platelet concentrates, the proportion of frozen concentrates was 2.73% for the manual method and 2.03% for the apheresis. For years 2011 to 2016, the thawed leukoreduced platelets concentrates represented between 1% and 4% of all ordered (administration) platelet concentrates. Frozen platelets concentrates have shown high quality in terms of platelets counts in the thawed blood component. This is confirmed by a satisfactory recovery for both the manual and automatic KKP method. However, we haven't noticed a specific usage of the thawed leukoreduced platelets concentrates, although in foreign publications we have found some information about using this kind of blood component in cardiac surgery or in other minor operative procedures. The main reason for using these platelet concentrates was the lack of this kind of fresh blood component. This was the reason of the frequency usage of these concentrates, which increased during holiday or holiday periods when blood was significantly reduced, especially specific blood groups.

CHŁONIAKI NIEZIARNICZE AGRESYWNE

PRZEWODNICZĄCY: K. WARZOCZA
(WARSZAWA), W. JURCZAK (KRAKÓW)

Doniesienia ustne

POSTĘPOWANIE TERAPEUTYCZNE U CHORYCH NA CHŁONIAKI ORAZ ITP U CHORYCH ZAKAŻONYCH HIV – DOŚWIADCZENIA WŁASNE

dr Ewa Bodzenta, Ilona Szypuła-Perkosz,
dr hab. Sebastian Grosicki

Oddział Hematologiczny w Chorzowie

Wstęp: Wtórne nowotwory i cytopenie pozostają problemem u chorych zakażonych HIV, mimo coraz skuteczniejszego leczenia antyretrowirusowego.

Cel: Tematem tego doniesienia są własne doświadczenia w postępowaniu z chorymi zakażonymi HIV, u których rozpoznano chłoniaka lub cytopenię.

Materiał i metody: Na Oddziale Hematologicznym w Chorzowie w latach 2015–2017 leczonych było 5 chorych zakażonych HIV z problemami hematologicznymi (DLBCL, PTCL, HL, małopłytkowość), mediana wieku 47 lat (25–52), 100% M. Leczenie w przebiegu chłoniaków przebiegało według rutynowo stosowanych pierwszoliniowych programów chemioterapii: w DLBCL – R-CHOP, w PTCL – CHOP, w HL – ABVD. Wszyscy chorzy uzyskali remisję potwierdzoną w PET. W 2 przypadkach diagnoza infekcji HIV była stawiana równolegle do rozpoznania chłoniaka. Wszyscy opisani chorzy otrzymywali równolegle leczenie antyretrowirusowe. Leczenie przebiegało planowo bez nietypowych powikłań. W tym czasie leczono 2 chorych z powodu istotnej cytopenii. W pierwszym przypadku była to głęboka (PLT 20 G/l) małopłytkowość z cechami skazy z objawami syderopenii. W mielogramie nie stwierdzono istotnej patologii. Diagnozę infekcji HIV postawiono w czasie tej hospitalizacji i po uzyskaniu poprawy wartości PLT chorego przekazano do leczenia antyretrowirusowego. W drugim przypadku małopłytkowość stwierdzono po ok. 5 latach leczenia antyretrowirusowego. Mielogram potwierdził diagnozę małopłytkowości immunologicznej. Efekt uzyskano po leczeniu immunoglobuliną.

Wyniki i wnioski: Rozpoznanie chłoniaków czy małopłytkowości w przebiegu infekcji HIV stawiane bywa często równolegle. Sposób postępowania terapeutycznego nie różnił się od ogólnie przyjętego w tych chorobach i był skuteczny. Nie obserwowano dodatkowych powikłań. Konsekwentne jednoczesne leczenie antyretrowirusowe daje nadzieję na długie życie tych chorych.

Introduction: The secondary malignancies and cytopenias are still considered as serious issues in patient with HIV infection.

Aim: The presentation of our experiences with treatment of patients with HIV infection, lymphomas and idiopathic thrombocytopenic purpura.

Material and methods: Between 2015 and 2017 there were 5 patients infected with HIV having hematologic disorders in our clinic: three of them with lymphomas: HL, DLBCL and PTCL, and two with IPT. We decided to treat patients with lymphomas according to standards: DLBCL – R-CHOP, HL – ABVD, and PCL – CHOP. The treatments were conducted without any problems. In case of patients with IPT we used corticosteroid and immunoglobulins, achieving good response.

Results and conclusions: Lymphomas and cytopenias are often diagnosed in the same time as HIV infection. Treatment of them did not differ from the common one in such cases. In our experiences we did not observe any unexpected adverse events and the results were comparable with the patients without viral infection. Parallel antiviral and lymphoma or cytopenia treatments were efficient and give chance for long survival of these patients.

POLIMORFIZM GENU IKZF1 JAKO NIEZALEŻNY CZYNNIK PROGNOSTYCZNY W CHŁONIAKACH ROZLANYCH Z DUŻYCH KOMÓREK B (DLBCL)

dr Marta Bielska¹, prof. Maciej Borowiec²,
dr Dorota Jesionek-Kupnicka³, Marcin Braun^{1,3,4},
dr Marcin Bojo⁵, dr Agata Pastorczak¹,
dr Ewa Kalinka-Warzocho⁵,
prof. Monika Prochorec-Sobieszek⁶,
prof. Tadeusz Robak⁷, prof. Krzysztof Warzocho⁶,
prof. Wojciech Młynarski¹, prof. Ewa Lech-Marańda^{6,8}

¹Klinika Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Zakład Genetyki Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

³Zakład Patologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

⁴Stadium Medycyny Molekularnej, Uniwersytet Warszawski

⁵Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika w Łodzi

⁶Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁷Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

⁸Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego,
Warszawa

Wstęp: W ciągu ostatnich kilku lat badania molekularne potwierdziły udział polimorfizmu rs4132601 genu IKZF1 w patogenezie ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL). Białko IKAROS funkcjonuje m.in. jako koordynator rozwoju funkcji immunologicznych i homeostazy. Każda, nawet pozornie niewielkie aberracja genu IKZF1 może spowodować wytworzenie defektywnego białka, hamującego normalny rozwój komórek B i tym samym

upośledzać system odpornościowy. Niniejsza praca po raz pierwszy prezentuje wyniki dotyczące wpływu badanego polimorfizmu na patogenezę chłoniaków rozlanych z dużych komórek B (DLBCL).

Cel: Celem badań była analiza związku germinalnego polimorfizmu rs4132601 genu IKZF1 z przebiegiem klinicznym chłoniaków rozlanych z dużych komórek B.

Materiał i metody: Materiał stanowiło DNA wyizolowane z tkanek nowotworowych zatopionych w blokach parafinowych dorosłych pacjentów z DLBCL ($n = 258$) z medianą wieku 63 lata (grupa badana) oraz DNA wyizolowane z krwi obwodowej osób zdrowych ($n = 731$) z medianą wieku 22 lata (grupa kontrolna). Analizę polimorfizmu przeprowadzono metodą dyskryminacji alleli przy użyciu sond znakowanych fluorescencyjnie (Applied Biosystems, USA) oraz wykorzystując oprogramowanie Sequence Detection System (SDS) (Applied Biosystems, USA).

Wyniki i wnioski: Nie stwierdzono różnic statystycznych w rozkładzie genotypów pomiędzy grupą badaną a kontrolną. Genotyp TT polimorfizmu IKZF1 występował częściej u pacjentów z wysokim (≥ 2) wskaźnikiem ECOG ($p = 0,055$) oraz w grupie pośrednio wysokiego i wysokiego ryzyka według IPI ($p = 0,04$). Pacjenci będący nosicielami genotypu TT badanego polimorfizmu prezentowali znacząco niższe prawdopodobieństwo PFS w porównaniu z pacjentami z genotypami G+ ($p = 0,03$). W analizie wieloczynnikowej Coxa polimorfizm rs4132601 genu IKZF1 zachował swój niezależny wpływ na wartość prognostyczną PFS ($p = 0,04$). Nosiciele genotypu TT z grupy ryzyka pośrednio niskiego i niskiego wg IPI charakteryzowali się niższym prawdopodobieństwem PFS w porównaniu z pacjentami z genotypami G+ ($p = 0,01$). W grupie chorych z chłoniakiem GCB pacjenci z genotypem TT prezentowali znacząco niższe 5-letnie OS w porównaniu z pacjentami z genotypami G+ ($p = 0,04$). Powyższe wyniki sugerują, że polimorfizm germinalny rs4132601 genu IKZF1 nie jest związany z ryzykiem wystąpienia chłoniaków DLBCL. Wydaje się, że badany polimorfizm może być niezależnym czynnikiem prognostycznym u chorych z chłoniakiem DLBCL.

Praca finansowana z grantu Narodowego Centrum Nauki nr 2013/09/N/NZ5/00822 oraz grantu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr 502-03/2-159-02/502-14-195.

CUKRZYCA JAKO NIEZALEŻNY OD IPI CZYNNIK PROGNOSTYCZNY U CHORYCH NA DLBCL – ANALIZA WIELOOŚRODKOWA POLSKIEJ GRUPY BADAWCZEJ CHŁONIAKÓW (PLRG)

dr n. med. Joanna Drozd-Sokołowska¹,
prof. Jan Maciej Zaucha^{2,3}, dr Agnieszka Giza⁴,
dr hab. Przemysław Biecek⁵, dr Monika Joks⁶,
prof. Tomasz Wróbel⁷, dr Beata Kumiega⁸,
dr Wanda Knopińska-Postuszny⁹,
dr Wojciech Spychałowicz¹⁰, dr Omeir Khan⁴,
prof. Wiesław Wiktor-Jędrzejczak⁴,
prof. Aleksander Skotnicki⁴, prof. Wojciech Jurczak⁴

¹Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Oddział Onkologii i Radioterapii, Gdyńskie Centrum Onkologii

³Zakład Propedeutyki Onkologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

⁴Klinika Hematologii, Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

⁵Wydział Matematyki i Nauk Informacyjnych, Politechnika Warszawska, Warszawa

⁶Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

⁷Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

⁸Oddział Hematologii Onkologicznej, Szpital Specjalistyczny w Brzozowie, Podkarpacki Ośrodek Onkologiczny im. ks. B. Markiewicza, Brzozów

⁹Oddział Hematologii, Warmińsko-Mazurskie Centrum Onkologii MSW w Olsztynie

¹⁰Oddział Chorób Wewnętrznych i Chemioterapii Onkologicznej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Wstęp: Występowanie chorób współistniejących u chorych na chłoniaka rozlanego z dużych komórek B (DLBCL) może istotnie wpływać na rokowanie. Po pierwsze ich obecność może ograniczać możliwość zastosowania lub zachowania odpowiedniej intensywności leczenia, po drugie leczenie chłoniaka może doprowadzać do zaostrzenia chorób współistniejących. Spośród chorób współistniejących najistotniejsze są choroby serca i cukrzyca.

Cel: Ocena wpływu chorób współistniejących na rokowanie chorych na DLBCL leczonych (R)-CHOP.

Materiał i metody: Analizą retrospektywną objęto 425 chorych na DLBCL, 204 mężczyzn, z medianą wieku w momencie rozpoznania 55 lat (18–86), o stopniu zaawansowania: I – 13 (3,1%), II – 87 (20,5%), III – 109 (25,6%), IV – 216 (50,8%). IPI wynosiło: 0–2 u 190, 3–5 u 183 chorych. Cukrzycę typu 2 w momencie rozpoznania DLBCL stwierdzono u 32 chorych (7,5%), chorobę serca u 29 (6,8%), zaburzenia lipidowe u 55 (12,9%), otyłość u 74 (17,4%), nadciśnienie tętnicze u 137 (32,2%). 80 (18,8%) chorych paliło papierosy.

Wyniki: U chorych na DLBCL ze współistniejącą cukrzycą odsetek odpowiedzi (ORR) na leczenie (R)-CHOP

wynosił 91,7% i nie różnił się od ORR u chorych bez cukrzycy (91,9%). W grupie z cukrzycą częściej występowały zakażenia, $p < 0,05$, natomiast odsetki powikłań sercowo-naczyniowych były podobne i wynosiły odpowiednio 38,5% i 37,25%. Najczęstszą przyczyną zgonu w obu grupach była progresja chłoniaka (30,8% i 39,2%), natomiast u chorych z cukrzycą obserwowano zwiększoną śmiertelność niezwiązaną z progresją/wznową chłoniaka (NRPM) występującą po zakończeniu leczenia – 5-letnie NRPM wynosiło odpowiednio 34,8% (95% CI: 10,8–52,4) i 8,2% (95% CI: 4,3–12), $p < 0,05$. Czynniki istotnie wpływającymi na przeżycie chorych na DLBCL w analizie jednowariantowej były IPI, cukrzyca i choroby serca, podczas gdy w analizie wielowariantowej IPI i cukrzyca. Przeżycie 5-letnie w grupie chorych na cukrzycę było istotnie krótsze niż w grupie bez cukrzycy 47% (95% CI: 24–67) vs 79% (95% CI: 72–85). Wpływ cukrzycy na przeżycie zależał od wieku chorych: 50–60 lat – HR 4,74 (95% CI: 1,61–13,98); 60–70 lat – 2,19 (95% CI: 0,60–7,98); 70–80 lat – 1,39 (95% CI: 0,43–4,49); > 80 lat – 2,13 (95% CI: 0,13–34,2).

Wnioski: Współistniejąca cukrzyca jest istotnym czynnikiem ryzyka zmniejszającym przeżycie chorych na DLBCL leczonych R-CHOP. Konieczna jest opieka wielodyscyplinarna nad tymi chorymi i indywidualizacja leczenia zarówno cukrzycy, jak i DLBCL.

Plakaty

P1. WIELOLEKOWY SCHEMAT INFUZYJNY DA-EPOCH W LECZENIU CHŁONIAKÓW AGRESYWNYCH. DOŚWIADCZENIA JEDNEGO OŚRODKA

**lek. Michał Taszner¹, lek. Agata Szymańska²,
dr hab. Maria Bieniaszewska¹**

¹Gdański Uniwersytet Medyczny

²Uniwersyteckie Centrum Kliniczne

Wstęp: Mimo wprowadzenia do leczenia agresywnych chłoniaków nie-Hodgkina (*non-Hodgkin lymphoma* – NHL) nowych klas leków celowanych, wyniki leczenia znacznego odsetka pacjentów pozostają niepomyślne. Zastosowanie schematów chemoterapii o ugruntowanej pozycji, np. CHOP (cyklofosmid, doksorubicyna, winkrystyna, prednizon), w chłoniakach o wysokiej złośliwości (*high grade B-cell lymphoma* – HGBL) wiąże się z dużym odsetkiem niepowodzeń, a w pierwotnym chłoniaku śródpiersiowym (*primary mediastinal B-cell lymphoma* – PMBCL) z koniecznością zastosowania radioterapii. Rozwijany od lat 90. XX w. schemat infuzyjny ze zmiennymi dawkami cytostatyków DA-EPOCH (*dose adjusted etoposide, prednisone, vincristine, cyclophosphamide, doxorubicine*) wydaje się skuteczniejszy niż CHOP w leczeniu HGBL i pozwala oszczędzić radioterapii znacznemu odsetkowi pacjentów z PMBCL.

Cel: Celem pracy jest przedstawienie doświadczeń jednego ośrodka w stosowaniu schematu DA-EPOCH w leczeniu chłoniaków agresywnych.

Materiał i metody: Od kwietnia 2015 r. do stycznia 2017 r. poddano leczeniu DA-EPOCH 14 pacjentów, w tym z PMBCL 6, z HGBL 5 i 2 z innymi NHL. Leczenie podawano zgodnie z schematem opisywanym w literaturze, stosując zmienne dawki cytostatyków w 96-godzinnym wlewie ciągłym.

Wyniki i wnioski: Podano łącznie 94 cykle chemioterapii. Po zakończeniu leczenia 9 pacjentów uzyskało całkowitą odpowiedź metaboliczną, 3 częściową odpowiedź, a u 1 pacjenta zaobserwowano wczesną progresję choroby. Nie wystąpiły zgony związane z leczeniem. Toksyczność zastosowanego schematu była akceptowalna, głównie hematologiczna. Wystąpiły 3 powikłania infekcyjne w stopniu 3. lub 4. DA-EPOCH jest skutecznym i bezpiecznym schematem leczenia, łatwym do stosowania w warunkach oddziału stacjonarnego w Polsce.

P2. RITUXIMAB-ASSOCIATED PROGRESSIVE MULTIFOCAL LEUKOENCEPHALOPATHY AFTER SINGLE R-CHOP TREATMENT FOR T-CELL RICH/HISTIOCYTE-RICH LARGE B-CELL LYMPHOMA

**dr Moa Forssberg¹, dr Cecilia Kämpe Björkqvall²,
dr med. Monika Klimkowska³,
dr hab., prof. UR Maciej Machaczka^{4,5}**

¹Department of Medicine, Nyköpings Hospital, Nyköping, Sweden

²Department of Medicine, Sunderby Regional Hospital of Norrbotten County, Luleå, Sweden

³Department of Clinical Pathology and Cytology, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

⁴Wydział Medyczny, Uniwersytet Rzeszowski, Polska

⁵Hematology Center Karolinska, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

Introduction: Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) is a rare, albeit often fatal, central nervous system demyelinating disorder caused by reactivation of the John Cunningham polyoma virus (JCV). JCV is latent in 70-90% of the adult population. PML affects mainly patients with impaired T-cell response. There is no effective treatment of PML so far. Rituximab, a monoclonal anti-CD20 antibody, is widely used as an important part of the therapy for B-cells non-Hodgkin lymphomas and various autoimmune diseases. Since the late 1990's some cases of PML have been reported among a few patients treated with Rituximab. The connection between Rituximab and activation of JCV is not fully understood.

Aim: With the increasing use of monoclonal antibodies as powerful immunomodulating therapies, reporting fatal complications associated with their usage is of great importance.

Material and methods: We present the case of a 61-year-old man with T-cell rich/histiocyte-rich large B-cell lymphoma who was treated with R-CHOP-14 and intrathecal methotrexate. Two weeks after the first R-CHOP course he developed generalised weakness, diplopia, dysarthria and disturbances in motor coordination. The patient was admitted to the department of neurology, and lymphoma treatment was postponed. Brain CT revealed the presence of 3 × 2 cm large hypodense white matter lesion in left cerebellar hemisphere as well as numerous unspecific white matter lesions. These findings were later confirmed by MRI. Lumbar puncture was performed, with extensive examination for potential infectious agents. Initial assessment suggested CNS involvement by lymphoma since only one major lesion was detected, and its location was atypical for PML. Results of CSF sample analysis returned 3 weeks after initiation of the first R-CHOP course, demonstrating 14,300 viral copies/mL. Other assays for infectious agents were negative. The patient's condition worsened. He developed progressive motoric deficits but retained intact cognitive functions. He had difficulties in swallowing and was unable to speak. Despite a treatment attempt with cidofovir and IVIG, the patient's motoric status continued to worsen, and he deceased nearly three months after onset of rituximab treatment.

Results and conclusions: Relative to the number of patients treated with Rituximab in the world, the risk of PML among patients treated with Rituximab is rather low. Nevertheless, it's still important that physicians administering this therapy are aware of this serious complications.

P3. INHIBITOR PAN-PIM, SEL24-B489 HAMUJE PROLIFERACJĘ ORAZ INDUKUJE APOPTOZĘ KOMÓREK CHŁONIAKA ROZLANEGO Z DUŻYCH KOMÓREK B W MECHANIZMIE OBEJMUJĄCYM ZABLOKOWANIE TRANSLACJI BIAŁEK ORAZ INHIBICJĘ AKTYWNOŚCI CZYNNIKÓW MYC ORAZ NFKB

**dr Ewa Jabłońska¹, dr Maciej Szydlowski¹,
prof. Monika Prochorec-Sobieszek²,
mgr Edyta Derezińska-Wołek²,
mgr Magdalena Cybulska³, dr Emilia Białopiotrowicz¹,
dr Tomasz Sewastianik¹, dr Anna Polak¹,
prof. Krzysztof Warzocha⁴, dr Wojciech Czardybon⁵,
dr Michał Gałęzowski⁵, dr Renata Windak⁵, A. Gołas⁵,
dr Krzysztof Brzózka⁵, prof. Przemysław Juszczynski¹**

¹Zakład Hematologii Eksperymentalnej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

³Zakład Genetyki, Centrum Onkologii, Warszawa

⁴Zakład Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁵Selvita S.A., Kraków

Wstęp: Około 30% chorych z chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B (DLBCL) nie odpowiada na stosowane leczenie, podkreślając konieczność opracowania bardziej skutecznych terapii. Inhibicja kinaz PIM-1/2/3 indukuje apoptozę komórek DLBCL, wskazując, że są one obiecującym celem terapeutycznym w DLBCL.

Cel: Identyfikacja mechanizmów toksyczności inhibicji kinaz PIM w liniach DLBCL przy użyciu inhibitora pan-PIM;SEL24-B489.

Materiał i metody: Ekspresję/fosforylację białek analizowano metodą WB. Proliferację oraz apoptozę oceniano metodami MTS i PI/AnnexinV. Zawartość RNA w komórkach oceniono metodą FACS-AO. Ekspresję genów określano metodą qPCR. Aktywność SEL24-B489 *in vivo* badano w mysim modelu z ksenoprzeszczepem linii DLBCL.

Wyniki: SEL24-B489 hamował wzrost linii DLBCL w stężeniach IC50: 0,29–1,17 μM. Dla określenia mechanizmów toksyczności inhibitora oceniono aktywność regulatorów translacji; 4EBP1/RPS6. Inhibitor silnie hamował aktywność obu białek w 6 liniach DLBCL. Ponieważ kinazy PIM zwiększają stabilność/aktywność Myc oraz NFκB-p65, określono wpływ SEL24-B489 na te białka. Inhibitor obniżał ekspresję Myc we wszystkich badanych liniach. Ponieważ kinazy PIM mogą kooperować z Myc w nasilaniu transkrypcji, oceniono globalną zawartość RNA po zastosowaniu SEL24-B489. Inhibitor obniżał zawartość RNA w komórkach o 22–37%. Następnie zbadano profil ekspresji genów w liniach HBL-1, U2932 i DHL-4 po traktowaniu inhibitorem. SEL24-B489 obniżał ekspresję licznych ge-

nów NFκB-zależnych wyłącznie w liniach ABC-DLBCL. Ponieważ aktywność NFκB warunkuje przeżywalność komórek ABC-DLBCL i może być blokowana inhibitorem BTK (ibrutynibem), oceniono wpływ połączenia SEL24-B489 i ibrutynibu. Inhibitory synergistyczne hamowały wzrost linii ABC-DLBCL. Aktywność SEL24-B489 zbadano w mysim modelu z ksenoprzeszczepem komórek DLBCL. W odróżnieniu od zwierząt kontrolnych obserwowano silne zahamowanie wzrostu guza (> 90%) u zwierząt traktowanych SEL24-B489.

Wnioski: Inhibitor SEL24-B489 indukuje apoptozę komórek DLBCL w nisko- lub submikromolowych stężeniach oraz hamuje wzrost guzów DLBCL w modelu *in vivo*. Mechanizmy toksyczności inhibitora obejmują zahamowanie translacji, degradację Myc, obniżenie globalnej transkrypcji oraz zablokowanie aktywności NFκB. SEL24-B489 i ibrutynib synergistycznie hamują wzrost komórek ABC-DLBCL. Uzyskane dane przyczyniają się do wyjaśnienia mechanizmów toksyczności inhibicji PIM w DLBCL i podkreślają potencjał terapeutyczny inhibitorów kinaz PIM w chorobie.

P4. MECHANIZMY WZAJEMNEJ REGULACJI POMIĘDZY BIAŁKIEM SZOKU CIEPLNEGO HSP90A I SIRTUINĄ 1 W CHŁONIAKACH ROZLANYCH Z DUŻYCH KOMÓREK B

dr Emilia Białopiotrowicz, dr Tomasz Sewastianik,
mgr Monika Noyszewska-Kania,
dr Maciej Szydłowski, dr Ewa Jabłońska,
dr Patryk Górniak, dr Anna Polak,
dr Przemysław Kiliszek, prof. Krzysztof Warzocha,
prof. Przemysław Juszczynski

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Przeżywalność większości chłoniaków rozlanych z dużych komórek B zależy od aktywności receptora B-komórkowego (BCR-DLBCL). Wyjątek stanowi grupa chłoniaków DLBCL charakteryzująca się nadekspresją genów związanych z fosforylacją oksydacyjną (OxPhos-DLBCL). Mechanizmy molekularnej patogenezы OxPhos-DLBCL są niejasne. Charakterystyczną cechą chłoniaków OxPhos jest nadekspresja białka szoku cieplnego HSP90α. Ekspresja białek HSP zależy od czynnika transkrypcyjnego HSF1, aktywowanego na skutek deacetytacji przez sirtuinę 1 (SIRT1).

Cel: Celem pracy było zbadanie roli SIRT1 w nadekspresji HSP90α, zdefiniowanie molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych za nadekspresję SIRT1 w podtypie OxPhos oraz ocena wpływu inhibicji SIRT1 i HSP90 na żywotność komórek DLBCL.

Materiał i metody: Ekspresję genów i stabilność białek zbadano metodami RQ-PCR i Western blot. Apoptozę oznaczono barwieniem aneksynaV/jodek propi-

dyny. Toksyczność inhibitorów SIRT1 i HSP90 oceniono testem MTS.

Wyniki i wnioski: Poziom białka SIRT1 w liniach komórkowych DLBCL korelował pozytywnie z poziomem ekspresji genu dla HSP90α (HSP90AA1). Wyłączenie aktywności SIRT1 (tenowina-6 i shRNA) hamowało wzrost ekspresji HSP90AA1 w warunkach szoku cieplnego. Białko SIRT1 wykazywało większą stabilność w komórkach z nadekspresją HSP90α. Inhibitor HSP90 (17AAG) przyspieszał degradację SIRT1, wskazując na opiekuńczą funkcję HSP90α w stosunku do SIRT1. Oba białka koimmunoprecypitowały, co potwierdziło ich bezpośrednie oddziaływanie. Wyciszenie aktywności SIRT1 metodą shRNA powodowało spadek proliferacji komórek OxPhos-DLBCL. Chemiczne zahamowanie aktywności SIRT1 (tenowiny-6) w komórkach BCR-DLBCL prowadziło do indukcji apoptozy. W komórkach tych tenowina-6 powodowała wzrost acetytacji i w konsekwencji inaktywację onkogenu BCL6, który jest niezbędny dla przeżywalności chłoniaków BCR-DLBCL. W liniach komórkowych OxPhos-DLBCL inhibitor SIRT1 powodował znacznie mniejszą apoptozę i przy wyższych jego stężeniach. Połączenie tenowiny-6 z inhibitorem HSP90 (17AAG) powodowało synergistyczny w tych komórkach wzrost toksyczności. Nasze badania wskazują na istnienie w chłoniakach OxPhos-DLBCL mechanizmów wzajemnej regulacji pomiędzy HSP90α i SIRT1 na drodze dodatniego sprzężenia zwrotnego. Powyższe rezultaty uzasadniają możliwość wykorzystania inhibitora SIRT1 w terapii chłoniaków BCR-DLBCL oraz łącznego zastosowania inhibitorów SIRT1 i HSP90 w terapii chłoniaków OxPhos-DLBCL.

P5. MODULACJA SYGNAŁU BCR PRZEZ MIKRO-RNA MIR-155 I MIR-17-92 W ROZLANYM CHŁONIAKU Z DUŻYCH KOMÓREK B (DLBCL)

dr Ewa Jabłońska, Patryk Górniak,
Przemysław Kiliszek, Maciej Szydłowski,
Tomasz Sewastianik, Emilia Białopiotrowicz,
Anna Polak, Weronika Prusisz,
Monika Prochorec-Sobieszek,
Anna Szumera-Ciećkiewicz, Krzysztof Warzocha,
Przemysław Juszczynski

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Sygnał generowany z receptora B-komórkowego (BCR) warunkuje przeżycie prawidłowych limfocytów i odgrywa istotną rolę w patogenezы DLBCL. Onkogenne mikroRNA miR-155 i miR-17-92 wpływają na aktywność BCR poprzez obniżanie ekspresji PTEN i SHIP1-negatywnych regulatorów sygnału płynącego od tego receptora.

Cel: Celem badania była identyfikacja nowych celów miR-155 i miR-17-92, które mogłyby mieć wpływ na deregulację aktywności BCR w DLBCL.

Materiał i metody: Do identyfikacji potencjalnych miejsc wiązania miR-155 i miR-17-92 wykorzystano algorytmy PicTar, Miranda, TargetScan, a ich weryfikację przeprowadzono przy użyciu wektorów z reporterem lucyferazowym. Ekspresja mikroRNA w limfocytach była modulowana poprzez transfekcję komórek analogami („mimikami”) bądź inhibitorami mikroRNA.

Wyniki: Przy użyciu algorytmów bioinformatycznych zidentyfikowano sekwencje wiążące miR-155 i miR-17-92 w rejonie 3'UTR genów regulujących amplitudę sygnału biegnącego od BCR: c-CBL (ligaza ubikwityny dla m.in. SYK), DEPTOR (fosfataza mTOR), PTPROT (fosfataza SYK) i PP2A (fosfataza AKT). Wprowadzenie mimików miR-155 i miR-17-92 zmniejszyło aktywność lucyferazy w komórkach transfekowanych wektorami z sekwencją 3'UTR badanych genów oraz obniżyło ekspresję badanych genów na poziomie mRNA lub białka. Ponadto nadekspresja miR-155 spowodowała wzrost fosforylacji AKT, a wprowadzenie miR-17-92 wzmocniło fosforylację SYK po pobudzeniu BCR w komórkach DLBCL. Ponieważ funkcja DEPTOR nie została opisana w DLBCL, oceniliśmy ekspresję tego białka za pomocą immunohistochemii w 76 biopsjach DLBCL. Kompletna utrata DEPTOR wystąpiła jedynie w non-GCB DLBCL (9 z 37; 24%), a u 12 chorych z tej grupy zaobserwowano niską ekspresję tego białka. W przeciwieństwie do non-GCB, żadna z biopsji GCB-DLBCL nie była negatywna na DEPTOR (Chi-square, $p = 0,005$). Ponadto, podwyższona ekspresja mRNA DEPTOR w DLBCL koreluje z dłuższym całkowitym przeżyciem (log rank test, $p = 0,018$). W celu zdefiniowania roli DEPTOR w DLBCL ekspresję tego genu wyciszono z użyciem shRNA. Spowodowało to podwyższenie aktywności AKT i przyspieszyło proliferację. Komórki z wyciszoną ekspresją DEPTOR były również mniej wrażliwe na apoptozę wywołaną inhibicją kinazy SYK czy hodowlą w pożywce bez FBS.

Wnioski: Przedstawione wyniki podkreślają rolę miR-155 i miR-17-92 w regulacji aktywności BCR w DLBCL oraz sugerują, że nowo zidentyfikowany cel miR-155, DEPTOR, pełni funkcję supresora nowotworowego w DLBCL.

P6. OCENA CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA DEREGLACJI GENETYCZNYCH CHARAKTERYSTYCZNYCH DLA DLBCL W ŚWIETLE MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA LEKÓW UKIERUNKOWANYCH NA CELE MOLEKULARNE

lek. Tomasz Chojnacki, prof. Piotr Rzepecki, dr Urszula Brzósowska

Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie

Wstęp: Analiza z użyciem sekwencjonowania nowej generacji (NGS) ujawnia zaskakującą różnorodność zaburzeń w DLBCL. Rozwój medycyny spersonalizowanej wymaga identyfikacji tzw. *driven mutations* oraz mutacji współistniejących, odpowiedzialnych np. za aktywację szlaków alternatywnych. Wyzwaniem jest uzależnienie wyboru kombinacji leków ukierunkowanych na cele molekularne od „garnituru” zaburzeń genetycznych pacjenta. W dążeniu do tego celu dysponujemy zbyt wieloma kombinacjami przy względnie małej liczbie pacjentów. Konieczne jest, aby najbardziej efektywne kombinacje były wyłaniane z badań przedklinicznych i przekładane na „celowane” badania kliniczne. Drugą możliwością jest stworzenie algorytmu, który byłby testowany w badaniach klinicznych. Jednym z pierwszych zadań jest opracowanie panelu badań, które powinny być wykonane przed wyborem optymalnego leczenia.

Cel: 1. Ocena częstości występowania poszczególnych zaburzeń genetycznych. 2. Wykazanie, że mutacje wielu genów mogą wpływać na wyniki leczenia. 3. Stworzenie podwalin dla większego projektu mającego na celu opracowanie algorytmu wyboru kombinacji leków w zależności od stwierdzanych zaburzeń genetycznych.

Materiał i metody: Do badania włączonych będzie 40 chorych z DLBCL. U każdego chorego z materiału uzyskanego z biopsji tkankowej guza zostanie wykonany panel badań przy użyciu metod IHC (immunohistochemii), FISH i NGS. Na panel składa się 35 zaburzeń, które można podzielić na kilka grup: 1) podtyp immunohistochemiczny, 2) nadekspresję i rearanżację BCL2, BCL6 i MYC, 3) mutacje supresorów wzrostu guza, 4) markery aktywacji szlaków komórkowych, o których wiadomo, że odgrywają główną rolę w patogenezie DLBCL, 5) mutacje genów kodujących białka na przebiegu tych szlaków, odpowiedzialne za ich aktywację bez udziału czynników aktywujących receptory błonowe komórki, 6) zaburzenia epigenetyczne. Każdy pacjent otrzyma standardowe leczenie z następową oceną efektów leczenia przy użyciu PET-CT lub CT.

Wyniki i wnioski: Do chwili obecnej otrzymano wyniki analiz 12 pacjentów. U każdego z nich występują zaburzenia genetyczne, średnio 4,5 (2–6) na pacjenta. Najczęstsze mutacje to EP300 (u 8/12 pacjentów), MYD88 i KMT2D (u 7/12 pacjentów). Spośród 12 pa-

cjentów całkowitą remisję osiągnęło 9 (75%). Na obecnym etapie można stwierdzić, że wśród najczęstszych zaburzeń dominują mutacje epigenetyczne. Wyniki analizy będą stanowić wstęp do dalszych badań nad personalizacją leczenia w erze coraz większej liczby dostępnych leków ukierunkowanych na cele molekularne.

Introduction: New generation sequencing (NGS) analysis reveals a surprising variety of genetic abnormalities in DLBCL. The development of personalized medicine requires identification as well the so-called “driven mutations” as coexisting mutations, responsible for e.g. for activation of alternative routes. The challenge is to find the right combination of drugs targeted at molecular targets related from patient’s characteristic genetic abnormalities. In the pursuit of this goal we have too many combinations with relatively small number of patients. It is imperative that the most effective combinations should be selected from preclinical studies and translated into “targeted” clinical trials. The second possibility is to create an algorithm that would be tested in clinical trials. One of the first tasks is to develop a research panel that should be done before choosing the optimal treatment.

Aim: 1. To rate the incidence of individual genetic abnormalities. 2. To demonstrate that multiple gene mutations can affect the outcome of the treatment. 3. To create the foundations for a larger project to develop an algorithm for selecting combinations of drugs depending on the genetic abnormalities.

Material and methods: 40 patients with DLBCL will be included in the study. Each patient with tumor tissue biopsy material will be screened using IHC (immunohistochemistry), FISH and NGS methods. The panel consists of 35 abnormalities, which can be divided into several groups: 1) immunohistochemical subtype, 2) overexpression and rearrangement of BCL2, BCL6 and MYC, 3) tumor suppressor mutations, 4) markers for activation of cellular pathways known to play a major role in DLBCL pathogenesis, 5) mutations of genes encoding proteins in the course of these pathways, responsible for their activation without cell membrane activators, 6) epigenetic disorders. Each patient will receive standard treatment with subsequent assessment of treatment effects using PET-CT or CT.

Results and conclusions: Up to now, 12 patients have been analyzed. Each of them has a genetic abnormalities, on average 4.5 (2-6) per patient. The most common mutations are EP300 (8/12 patients), MYD88 and KMT2D (7/12 patients). Total remission reached 9 from 12 patients (75%). At this stage epigenetic mutations are predominant among the most common abnormalities. The results of the analysis will provide an introduction to further research into the era of personalization of treatment in the growing number of molecular-targeted drugs available.

P7. PIERWOTNY CHŁONIAK PIERSI – CHARAKTERYSTYKA I WYNIKI LECZENIA – ANALIZA WIELOOŚRODKOWA POLSKIEJ GRUPY BADAWCZEJ CHŁONIAKÓW (PLRG)

dr n. med. Joanna Romejko-Jarosińska¹,
dr Ewa Paszkiewicz-Kozik¹,
dr Joanna Drozd-Sokołowska²,
dr n. med. Anna Waszczuk-Gajda²,
dr Wojciech Spychałowicz³,
dr hab. med. Sławomir Blamek⁴,
dr Monika Kulma-Kreft⁵, dr Agnieszka Giza⁶,
dr Paweł Kurczab⁷, dr Beata Kumiega⁸,
prof. Jan Maciej Zaucha⁵

¹Klinika Nowotworów Układu Chłonnego, Centrum Onkologii

– Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

²Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

³Klinika Chorób Wewnętrznych i Chemioterapii
Onkologicznej w Katowicach

⁴Zakład Radioterapii, Centrum Onkologii – Instytut
im. Marii Skłodowskiej-Curie w Gliwicach

⁵Oddział Onkologii Klinicznej, Szpital Morski w Gdyni

⁶Oddział Kliniczny Hematologii, Szpital Uniwersytecki
w Krakowie

⁷MRUKMED Rzeszów

⁸Oddział Hematologii Onkologicznej, Podkarpacki Ośrodek
Onkologiczny, Brzozów

Wstęp: Nowotwory układu chłonnego występują w obrębie piersi bardzo rzadko, stanowiąc mniej niż 0,5% wszystkich guzów piersi. Histopatologicznie jest to bardzo heterogenna grupa, w której najczęstszym rozpoznaniem jest chłoniak rozlany z dużych komórek B (DLBCL). Z powodu rzadkiego występowania dane o przebiegu klinicznym, czynnikach prognostycznych i leczeniu są względnie ograniczone.

Cel: Celem naszego badania było podsumowanie charakterystyki chorych, ocena podejścia terapeutycznego, przebiegu choroby oraz wyników leczenia u chorych z nowo rozpoznany pierwotnym chłoniakiem piersi.

Materiał i metody: W ramach Polskiej Grupy Badawczej Chłoniaków zebraliśmy retrospektywnie dane o 53 chorych leczonych w latach 2002–2014.

Wyniki i wnioski: Mediana wieku w momencie rozpoznania wynosiła 60 lat (przedział 17–87 lat). Dominowało rozpoznanie chłoniaka DLBCL – 42 chorych (80%), u 4 chorych (7%) zdiagnozowano chłoniaka grudekowego, u 4 – chłoniaka typu MALT (7%), u 6 inne. Stopień zaawansowania (CS) III/IV stwierdzono u 21 (40%). Z 53 chorych do leczenia zakwalifikowano 50 chorych, a 3 chorych na chłoniaka o powolnym przebiegu poddano obserwacji. Immunochemioterapię (RCHOP lub RCVP) jako pierwsze leczenie podano u 37 chorych, samą chemoterapię leczonych było 13 chorych, uzupełniającą radioterapię leczono 11 chorych (22%). Profilaktykę ośrodkowego układu nerwowego (OUN) jako dokanałowe podanie metotreksatu zastosowano u 3 chorych (6%). Odpowiedź na leczenie uzyskała

44 z 48 ocenionych chorych (93%), w tym 36 chorych uzyskało całkowitą remisję (76%). Przy medianie obserwacji 37 miesięcy (przedział: 1–187) 5-letnie przeżycie całkowite (OS) i 5-letnie przeżycie bez progresji choroby (PFS) dla całej grupy było odpowiednio: 58% (95% CI: 47–73), 53% (95% CI: 38–68). Nawrót lub progresję obserwowano u 20 z 51 (40%) chorych, w tym u 16 chorych z DLBCL. Czas do nawrotu wyniósł od 1 do 133 miesięcy (mediana 11 miesięcy). U 10 chorych z DLBCL (25%) stwierdzono przy nawrocie zajęcie OUN, u pozostałych chorych obserwowano nawrót w piersi, węzłach chłonnych, skórze i żołądku. Pierwotny chłoniak piersi stanowi heterogenną grupę nowotworów układu chłonnego, z przewagą rozpoznania chłoniaka rozlanego z dużych komórek B. U ponad 80% chorych przebieg choroby jest agresywny z wysokim odsetkiem nawrotów, szczególnie w umiejscowieniu pozawęzłowym, w tym OUN. Oprócz standardowej immunochemioterapii u chorych wskazana byłaby profilaktyka OUN.

P8. CHARAKTERYSTYKA KLINICZNA I OCENA WYNIKÓW LECZENIA CHORYCH NA CHŁONIAKA Z DUŻYCH KOMÓREK B BOGATEGO W HISTIOCYTY/LIMFOCYTY T (THRLBCL)

lek. med. Paweł Szwedyk

Oddział Hematologii, Szpital im. Ludwika Rydygiera w Krakowie

Wstęp: Chłoniak z dużych komórek B bogaty w histiocyty/limfocyty T (THRLBCL) jest podtypem chłoniaka rozlanego z dużych komórek B. W obrazie histopatologicznym wyróżnia się on małą liczbą nowotworowych limfocytów B. Dominują limfocyty T i histiocyty. Wobec rzadkości występowania dane są skąpe, a publikowane analizy obejmowały kilkudziesięciu chorych. Nie było opracowań dotyczących THRLBCL w literaturze polskiej. Dane dotyczące wyników leczenia THRLBCL odnoszą się do okresu sprzed włączenia do terapii przeciwciała monoklonalnego. Pojedyncze prace analizują wyniki leczenia z zastosowaniem rytuksymabu. Założono, że THRLBCL różni się pod względem charakterystyki klinicznej od DLBCL.

Cel: Porównanie charakterystyki klinicznej obu podtypów, określenie czynników prognostycznych u chorych na THRLBCL oraz porównanie wyników leczenia THRLBCL i DLBCL NOS.

Materiał i metody: Charakterystyka kliniczna objęła parametry demograficzne, ocenę stadium zaawansowania, lokalizację zmian, obecność objawów ogólnych, stan funkcjonalny chorego, wartości międzynarodowego wskaźnika prognostycznego. Ocena wyników leczenia została prowadzona w odniesieniu do odsetka całkowitych remisji i całkowitego przeżycia. Dane dotyczące 47 chorych na THRLBCL zostały zebrane z zastosowaniem ankiet, z udziałem 7 ośrodków w ramach PALG/PLRG.

Dane dotyczące 229 pacjentów z DLBCL NOS również z ośrodków PALG/PLRG. Przy porównaniu charakterystyki klinicznej zostały wykorzystane testy statystyczne: test χ^2 , dokładny test Fishera, test U Manna-Whitneya. Prawdopodobieństwo przeżycia oszacowano metodą Kaplana-Meiera i porównywano testem log-rank. Modele regresji logistycznej i proporcjonalnego ryzyka Coxa wykorzystano w analizach wielowariantowych.

Wyniki i wnioski: 1. W porównaniu z DLBCL NOS chorzy na THRLBCL cechowali się przewagą płci męskiej, wyższym stadium zaawansowania, częstszym zajęciem szpiku, gorszym stanem sprawności. Częściej również występowały objawy ogólne oraz podwyższona aktywność LDH. 2. W badanej grupie chorych uznane czynniki ryzyka stosowane w stratyfikacji chorych na DLBCL NOS nie miały znamiennej wpływu na rokowanie pacjentów z THRLBCL. 3. W porównaniu z DLBCL NOS u chorych na THRLBCL stwierdzono mniejszą szansę uzyskania całkowitej remisji i tendencję do mniejszego prawdopodobieństwa przeżycia. W analizie ograniczonej do pacjentów w zaawansowanych stadiach choroby rokowanie dla obu podtypów było podobne.

ANEMIA APLASTYCZNA PNH

PRZEWODNICZĄCY: K. KAŁWAK
(WROCŁAW), A. DEPTAŁA (WARSZAWA)

ALLOGENICZNE PRZESZCZEPIONIE KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH W NOCNEJ NAPADOWEJ HEMOGLOBINURII – DOŚWIADCZENIE 12 LAT

prof. Mirosław Markiewicz¹, dr Anna Kocięga¹,
dr Monika Dzierżak-Mietła¹, dr Krzysztof Białas¹,
dr Ewa Mendek-Czajkowska²

¹Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Wydział Lekarski w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

²Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Nocna napadowa hemoglobinuria (NNH) to klonalna choroba komórki macierzystej, w której w następstwie mutacji dochodzi do braku związanych z GPI błonowych inhibitorów dopełniacza i do hemolizy. Objawy NNH skutecznie leczy blokowanie dopełniacza, ale jedynie allogeniczne przeszczepienie komórek krwiotwórczych (alloHCT) umożliwia całkowite wyleczenie.

Cel: Celem pracy jest ocena bezpieczeństwa i skuteczności alloHCT w NNH.

Materiał i metody: Analizowano 41 alloHCT z lat 2004–2016: 37 od dawców niespokrewnionych (UD) i 4 od rodzeństwa, z powodu NNH z: aplazją (19), mielodysplazją (MDS) (2), aplazją i MDS (3), ciężkim przebiegiem z kryzysami hemolitycznymi bez dostępu do ekulizumabu (17). Mediana wieku biorców 29

(20–62) lat, dawców 30 (19–53) lat, czasu od dgn do alloHCT 16 (2–307) miesięcy. Średnia wielkość klonu granulocytów NNH 80 (0,5–100)%. Czynniki ryzyka: zespół Budda-Chiariego (1), niewydolność nerek w wywiadzie (2), przewlekłe zapalenie wątroby typu B (1) i C (1). Leczenie kondycjonujące: treosulfan z fludarabiną (31) lub z cyklofosfamidem (10). Profilaktyka GVHD: CsA i Mtx (39), mykofenolan mofetylu i takrolimus (2), ATG w alloHCT od UD. Źródło komórek: szpik kostny (13), krew obwodowa (28), z medianą $6,3 \times 10^8$ NC/kg, $5,7 \times 10^6$ komórek CD34+/kg, $24,7 \times 10^7$ komórek CD3+/kg. U wszystkich chorych uzyskano mieloablację z medianą 9 (1–20) d. agranulocytozy < 0.1 G/l. Mediana liczby przetoczonych jednostek RBC i płytek krwi wynosiła 9 (0–16) i 8 (2–18).

Wyniki i wnioski: U wszystkich chorych uzyskano wszczep, mediana liczby ANC 0.5 G/l, płytek krwi 50 G/l i Hb 10 g/dl została osiągnięta w 17,5 (10–33), 16 (9–39) i 19,5 (11–34) dnia. Ostra GVHD I, II i III stopnia była obecna u 16, 7 i 3 chorych, ograniczona i rozległa przewlekła GVHD u 11 i 3. Uzyskano redukcję LDH o 73 (5–91)% w 30. dniu. 100-procentowy chimeryzm dawcy uzyskano u wszystkich chorych, u 1 wystąpił jego spadek do 81% skutecznie wyleczony infuzjami limfocytów dawcy (DLI). Trzech pacjentów zmarło, jeden w wyniku nefrotoksyczności w +102. dniu. wcześniej hemodializowany, dwóch innych pacjentów z aplazją w +56. dniu z powodu zapalenia płuc i w +114. dniu z powodu niewydolności wielonarządowej i aGVHD-III. Powikłania u pozostałych chorych to FUO (10), reaktywacja CMV (13), SOS (1), neurotoksyczność (1), zakrzepica żylna (1), krwotoczne zapalenie pęcherza moczowego (4) i zapalenie błony śluzowej (8). 38 chorych (92,7%) żyje, 4,2 (0,4–12) roku po alloHCT i nie wymaga leczenia, u wszystkich potwierdzono fluorymetrycznie całkowitą eradykację klonu NNH. AlloHCT z przygotowaniem treosulfanem stanowi skuteczne i dobrze tolerowane leczenie NNH.

Introduction: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a rare acquired clonal abnormality of hematopoietic stem cell leading to complement-mediated lysis. Despite the efficient symptomatic treatment of hemolytic PNH with complement inhibitors, alloHCT is the only curative treatment for the disease.

Aim: The aim of this study was to evaluate the safety and effectiveness of alloHCT in PNH.

Material and methods: We report 41 alloHCTs: from MUD (37) and MRD (4) performed in 2004–2016 for PNH with aplasia (19 pts), MDS (2), overlapping MDS/aplasia (3), severe course with hemolytic crises and transfusion-dependency without access to eculizumab (17). Median age of recipients was 29 (20–62) y. and donors 30 (19–53), time from diagnosis to alloHCT 16 (2–307) mths. Median size of PNH granulocytes clone was 80 (0.5–100)%. Additional risk factors were Budd-Chiari syndrome (1), history of renal insufficiency requiring hemodialyses (2), chronic hepatitis B (1)

and C (1). The preparative regimen consisted of treosulfan with fludarabine (31) or with cyclophosphamide (10). GVHD prophylaxis consisted of cyclosporine-A and methotrexate (39), mycophenolate mofetil and tacrolimus (2), pre-transplant ATG in MUD-HCT. Source of cells was bone marrow (13) or peripheral blood (28) with median 6.3×10^8 NC/kg, 5.7×10^6 CD34+cells/kg, 24.7×10^7 CD3+cells/kg. Myeloablation was complete in all pts with median 9 (1–20) d. of agranulocytosis < 0.1 G/l. Median number of transfused RBC and platelets units was 9 (0–16) and 8 (2–18).

Results and conclusions: All pts engrafted, median ANC 0.5 G/l, platelets 50 G/l and Hb 10 g/dl were achieved on d. 17.5 (10–33), 16 (9–39) and 19.5 (11–34). Acute GVHD grade I, II and III was present in 16, 7 and 3 pt, limited and extensive chronic GVHD in 11 and 3 pts. LDH decreased by 73 (5–91)% at day +30. 100% donor chimerism was achieved in all pts, it decreased to 81% what was treated with donor lymphocytes infusion (DLI) in 1 pt. 3 pts died, due to nephrotoxicity on day +102 (1), two other with SAA on day +56 due to pneumonia and +114 due to aGVHD-III and multi organ failure. Complications in survivors were FUO (10), CMV reactivation (13), VOD (1), neurotoxicity (1), venal thrombosis (1), hemorrhagic cystitis (4) and mucositis (8). 38 pts (92.7%) are alive 4.2 (0.4–12) y. post-transplant and are doing well without treatment. Complete disappearance of PNH clone was confirmed by flow cytometry in all surviving pts. We conclude that allo-HCT with treosulfan-based conditioning is effective and well tolerated curative therapy for PNH.

NOWOTWORY MIELOPROLIFERACYJNE

PRZEWODNICZĄCY:

A. SKOTNICKI (KRAKÓW),
K. LEWANDOWSKI (POZNAŃ)

Doniesienia ustne

ZAKRZEPICA A STATUS MUTACJI (JAK2 VERSUS CALR) U CHORYCH Z NADPŁYTKOWOŚCIĄ SAMOISTNĄ. BADANIE RETROSPEKTYWNE WIELOOŚRODKOWE POLSKO-HISZPAŃSKIE

dr Marta Sobas¹, Aitor Abuín Blanco², Iga Andrasiak³,
Magdalena Laszkowska-Leszko¹,
Magdalena Olszewska-Szopa¹,
Manuel Mateo Pérez Encinas², Alicia Saez Salinas⁴,
Monika Olejniczak⁵, Bożena Jaźwiec⁵, Laura Bao Pérez²,
Celsa Quinteiro Garcia⁶, Jose Luis Bello Lopez²,
Cristina Bilbao Sieyro⁴, María Teresa Gómez Casares⁴,
Kazimierz Kulickowski¹, Tomasz Wrobel¹

¹SPSK1, Department of Hematology, Blood Neoplasms and Bone Marrow Transplantation, Wrocław Medical University

²Department of Hematology, University Hospital of Santiago de Compostela, Spain

³WroMedica Research Center

⁴University Hospital of Gran Canaria Dr. Negrin, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

⁵Wrocław Medical University, Wrocław, Poland

⁶Genomic Medicine Group, Fundacion Publica Galega de Medicina Xenomica, Santiago, Spain

Wstęp: Głównym powikłaniem nadpłytkowości samoistnej (ET) są incydenty zakrzepowe. Do oceny jej ryzyka używany jest wskaźnik IPSET (uwzględniający JAK2). Aktualnie brak jest jednoznacznych danych na temat związku CALR z zakrzepicą.

Cel: Celem pracy była analiza zakrzepicy w ET w zależności od statusu mutacji (JAK2 vs CALR).

Materiał i metody: Retrospektywne badanie przeprowadzone zostało u 626 chorych z ET. Zebrano dane kliniczne i analityczne (z oceną IPSET). Mutacje JAK2 i CALR badano zgodnie z lokalnymi protokołami. Analiza statystyczna przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 13.1 (Windows).

Wyniki: Mutację JAK2 potwierdzono u 67%, a CALR u 26% chorych z ET. W grupie CALR+ stwierdzono 50% mutacji CALR typu 1, 42% typu 2 i 8% innego. W ET CALR+ w porównaniu z JAK2+ wykazano niższe wartości leukocytów (8,5 vs 9,4 x 10⁹/l; $p < 0,001$) i hemoglobiny (13,3 vs 14,3 g/dL; $p < 0,001$) oraz wyższe płytek (989 vs 714 x 10⁹/l, $p < 0,001$). Zakrzepica była stwierdzana dwa razy częściej u chorych z ET JAK2+ niż CALR+ (OR 2,13; $p = 0,009$). Nie zaobserwowano natomiast istotnej statystycznie różnicy w częstości występowania

zakrzepicy między CALR typu 1 vs typu 2 (13,6% vs 7,4%; OR 1,98; $p = 0,228$). Przetrwanie wolne od zakrzepicy zależy od statusu mutacji ($p = 0,002$): najwyższe ryzyko zaobserwowano w ET JAK2+. W ET CALR+ stwierdzono tendencję do wyższego przeżycia wolnego od zakrzepicy w CALR typu 2. Niższy wskaźnik IPSET jest częstszy w ET CALR+ vs JAK2+ (57% vs 0,5%, $p < 0,001$). W grupie ET JAK2+ zakrzepica w wywiadzie była dwukrotnie częstsza niż w ET CALR+ (OR 2,14; $p = 0,042$). Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie w wieku ($p = 0,381$) ani obecności czynników sercowo-naczyniowych ($p = 0,697$) między JAK2+ a CALR+ ET. IPSET nie różnił się istotnie statystycznie między grupami CALR typu 1 i 2. Stosowana terapia to leki antyagregacyjne (85%) i cytoredukcja (73%). Nie zaobserwowano korelacji pomiędzy statusem mutacji (JAK2 i CALR) a stosowaną terapią.

Wnioski: 1. Częstość występowania mutacji JAK2 i CALR jest podobna do opisanych w piśmiennictwie. 2. Pacjenci z ET CALR+ charakteryzują się wyższymi wartościami płytek, co nie przekłada się na większą częstość zakrzepicy. 3. Istnieje tendencja, aby ET CALR+ typu 2 w porównaniu z typem 1 miały wyższe przeżycia wolne od zakrzepicy. 4. Niski wskaźnik IPSET był istotnie statystycznie częściej stwierdzany w grupie CALR+. 5. CALR i wskaźnik IPSET powinny być stosowane do oceny ryzyka zakrzepicy i przed ewentualnym włączeniem leków antyagregacyjnych/cytoredukcyjnych.

Introduction: The main complication of essential thrombocythemia (ET) is thrombosis. IPSET score (with JAK2 included) is used to calculate the risk of thrombosis. There are no clear data according to thrombosis and CALR correlation.

Aim: The aim of our study was to analyse the risk of thrombosis in ET depending on the mutational status (JAK2 vs. CALR).

Material and methods: We performed a retrospective study on 626 ET patients. Clinical and analytical data (including IPSET) were collected. The JAK2 and CALR mutations were analysed according to local protocols. Statistical analysis was performed using Statistica 13.1 (Windows).

Results: JAK2 mutation was present in 67% and CALR in 26% patients with ET. In CALR+ group there was 50% of CALR type1, 42% type2 and 8% other. In CALR+ in comparison to JAK2+ ET lower leucocyte (8.5 vs. 9.4 x 10⁹/l; $p < 0.001$) and hemoglobin (13.3 vs. 14.3 g/dL; $p < 0.001$) and higher platelet value were observed (989 vs. 714 x 10⁹/l, $p < 0.001$). Thrombosis was revealed two times more often in ET JAK 2+ than CALR+ (OR 2.13; $p = 0.009$). No significant difference in frequency of thrombosis between CALR type1 vs CALR type2 (13.6% vs. 7.4%; OR 1.98; $p = 0.228$) was observed. Thrombosis free survival depends on type of mutation ($p = 0.022$): ET JAK2+ had the highest risk of thrombosis. In ET CALR+ group, CALR type2 seems to be superior in thrombosis free survival. Low IPSET

score was significantly more frequent in ET CALR+ vs. JAK2+ (57% vs. 0.5%, $p < 0.001$). ET JAK2+ patients had history of previous thrombotic events two times more often than those carrying CALR (OR 2.14; $p = 0.042$). There were no significant differences between JAK2+ and CALR+ ET neither in age ($p = 0.381$) nor presence of cardiovascular risk factors ($p = 0.697$). When we compared CALR type 1 vs. type 2 in relation to IPSET score, there were no significant differences. With regard to the treatment: 85% of patients were on antiaggregative and 73% on cytoreductive therapy. There was no correlation between mutational status (JAK2 and CALR) of ET patients and applied therapy.

Conclusions: 1. The frequency of JAK2 and CALR mutation were similar to previously described. 2. In CALR+ET patients higher platelet count was observed, but no higher frequency of thrombosis was described. 3. ET CALR type2 vs type1 seems to be superior in thrombosis free survival. 4. Lower IPSET score was significantly more frequent in CALR+ ET. 5. Probably CALR and IPSET score should be used to assess the risk of thrombosis and establish proper antiaggregation/cytoreduction therapy.

RELATYWNIIE WYSOKA CZĘSTOŚĆ WSPÓŁWYSTĘPOWANIA MUTACJI JAK2 LUB CALR Z KLONALNYMI ABERRACJAMI CYTOGENETYCZNYMI U CHORYCH NA NADPŁYTKOWOŚĆ SAMOISTNĄ

prof. Krzysztof Lewandowski, mgr Błażej Ratajczak, mgr Zuzanna Kanduła, dr Marzena Wojtaszewska, mgr Anna Przybyłowicz-Chalecka, dr Michał Gniot, mgr Kinga Eling, stud. Magdalena Narkun, prof. Małgorzata Jarmuż-Szymczak, prof. Mieczysław Komarnicki

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Wstęp: Konwencjonalna ocena chromosomów dostarcza przydatnych informacji u chorych na nowotwory mieloproliferacyjne. Najnowsze wytyczne diagnostyczne dotyczące diagnostyki chorych na nadpłytkowość samoistną (ET) nie zalecają wykonywania kariotypu w trakcie oceny wstępnej. Może to wynikać z relatywnie niskiej częstości występowania (< 5–10%) aberracji cytogenetycznych raportowanej dotychczas u chorych na ET.

Cel: Ocena częstości występowania zaburzeń cytogenetycznych i molekularnych u chorych na ET.

Materiał i metody: Oceniono 63 chorych z rozpoznaniem ET ustalonym w oparciu o zrewidowane kryteria WHO z 2008 r. zakwalifikowanych do oceny kariotypu metodą GTG. Jakościowa ocena molekularna obecności mutacji JAK2 V617F została przeprowadzona

za pomocą allelospecyficznego PCR w czasie rzeczywistym zwalidowanego w ramach European JAK2-V617F Interlaboratory Quality Control Study. Mutacje egzonu 10 genu receptora dla trombopoetyny (MPL) genu kalretikuliny (CALR) wykrywano, stosując analizę krzywych topnienia (HRM). W przypadkach stwierdzenia nieprawidłowych sygnałów w obu metodach matryce analizowano za pomocą sekwencjonowania Sangera.

Wyniki i wnioski: U 38 chorych na ET (60,3%) potwierdzono kariotyp prawidłowy. U 25 (39,7%) pacjentów wykazano obecność klonalnych zaburzeń cytogenetycznych (CCA): liczbowych u 19 chorych (30,1%) i strukturalnych u 7 (11,1%). Najczęstszym typem CCA była -22 (7 chorych), -21 (6 chorych) i zaburzenia chromosomu 9 [(del9q u 3 chorych, monosomia u 1, i inv(9) oraz + 9 w każdym przypadku u 1 chorego)]. U 3 chorych wykazano CCA chromosomu 20 (-20 u 2 chorych i del20q u 1 chorego). Także u 3 chorych stwierdzono obecność CCA obejmujące chromosom 8 (-8 u 2 i del8p u 1 chorego). U 2 innych chorych stwierdzono tetraploidię. Badania molekularne wykazały obecność JAK2 V617F u 36/62 chorych (58,1%). 21 spośród 36 chorych (58,3%) JAK2 V617F-dodatnich chorych na ET miało kariotyp prawidłowy. U 15 (41,7%) pacjentów potwierdzono współwystępowanie mutacji JAK2 V617F z CCA. U 6 chorych stwierdzono -22, u 4 chorych aberracje chromosomu 9, a u 4 pacjentów utratę chromosomu Y. Ponadto, u 3 chorych obecna była -14 lub -21. U 16 spośród 26 V617F JAK2-negatywnych chorych (61,5%) kariotyp był prawidłowy. U 10 pacjentów (38,5%) potwierdzono obecność CCA [-21 u 3 chorych, -16 lub -19 każdorazowo w 2 przypadkach, del(9)(q22) u 2 innych chorych, a del5q, -20 lub -22 w pojedynczych przypadkach]. Tetraploidię współwystępującą z mutacją CALR stwierdzono u 2 pacjentów z ET. Szczegółowa ocena cytogenetyczna i molekularna chorych na ET wydaje się uzasadniona.

Introduction: Conventional chromosome analysis has provided useful diagnostic and/or prognostic information in myeloproliferative neoplasms. Recent diagnostic guidelines for patients (pts) with essential thrombocythaemia (ET) do not recommend karyotype analysis in diagnostic work-up. This may be caused by relatively low frequency (< 5-10%) of such abnormalities in ET patients reported yet.

Aim: Analysis of the frequency of cytogenetic and molecular changes in ET patients.

Material and methods: We analysed 63 patients diagnosed with ET according to the revised WHO criteria from 2008 and qualified for GTG cytogenetic evaluation. The quantitative molecular analysis of JAK2 V617F mutations was conducted using 'real-time' qPCR. Thrombopoietin receptor gene (MPL) exon 10 mutations were detected using the high-resolution melting (HRM) analysis. The calreticulin gene (CALR) mutation screening was done by HRM with subsequent capillary electrophoresis. If abnormal signals were found with

these methods, the templates were analysed with a Sanger sequencing system.

Results and conclusions: In 38 of ET pts (60.3%) normal karyotype was found. In 25 pts (39.7%) the presence of clonal cytogenetic aberrations (CCA) was documented: numeric in 19 of pts (30.1%), and structural in 7 (11.1%). The most frequent CCA was -22 (7 pts), -21 (6 pts) and aberrations of chr 9 [(del9q in 3 pts, monosomy in 1 pts, and inv(9) and + 9 each in 1 patient]. In 3 pts chr 20 CCA was found (-20 in 2 pts and del20q in 1 pts). Also in 3 pts CCA of chr 8 were documented (-8 in 2 and del8p in 1 pts). In 2 other pts tetraploidy was confirmed. Molecular test confirmed the presence of JAK2 V617F mutation in 36/62 of pts (58.1%). 21 out of 36 pts (58.3%) of JAK2 V617F positive ET pts have a normal karyotype. In 15 (41.7%) of pts coexistence of JAK2 V617F mutation and CCA was found. In 6 pts -22, in 4 pts aberrations of chr 9 and in 4 pts loss of chr Y was present. Moreover, -14 or -21 was confirmed, each in three cases. 16 out of 26 V617F JAK2 negative pts (61.5%) have a normal karyotype. In 10 pts (38.5%) the presence of CCA was confirmed [-21 in 3 pts, -16 or -19 each in 2pts, del(9)(q22) was found in 2 other pts and del5q, -20 or -22 was documented each once]. Tetraploidy associated with CALR mutation was documented in 2 ET pts. Detailed molecular and cytogenetic evaluation of ET pts seems to be reasonable. It may help to understand the pathophysiology of disease and probably better stratify the risk of unfavourable disease outcome.

THE MOLECULAR SUBTYPES HAVE NO INFLUENCE ON A PREVALENCE OF ACQUIRED VON WILLEBRAND SYNDROME IN ESSENTIAL THROMBOCYTHEMIA

dr Witold Prejzner, Andrzej Mital,
Maria Bieniaszewska, Aleksandra Leszczyńska,
Agata Szymańska, Agnieszka Piekarska,
Andrzej Hellmann

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii, Gdański
Uniwersytet Medyczny

Introduction: Acquired von Willebrand syndrome (AVWS) is a rare bleeding disorder with the broad spectrum of clinical and laboratory findings mimicking a hereditary form of von Willebrand disease. AVWS develops secondarily to other diseases such as myeloproliferative neoplasms. Among myeloproliferative disorders, AVWS is most often observed in essential thrombocythemia (ET).

Aim: The correlation between the mutation status and the clinical course of ET patients has not been completely established. We analysed and character-

ised the prevalence and clinical features of ET with and without AVWS according to the molecular subtype.

Material and methods: This study included a group of 80 patients with ET, AVWS was confirmed on the basis of abnormal levels of von Willebrand factor or von Willebrand antigen. The JAK2V617F mutation status was assessed using the ARMS-PCR method. All patients with a non-mutated JAK2 gene were further evaluated for CALR and MPL mutations. The patients with JAK2, CALR, MPL mutations and patients lacking the identified mutation (triple-negative ones) with and without AVWS were compared in terms of their demographic characteristics (gender distribution, age at the diagnosis of ET), the clinical and laboratory features at the time of diagnosis, the clinical outcome (transformation to myelofibrosis or leukemic phase) and the survival.

Results and conclusions: A group of 80 patients with ET includes 19 (23.8%) with AVWS and 61 (76%) without AVWS. In the group of ET with AVWS 14 (73.7%) patients were the JAK2 V617F mutation carriers, 3 (15.8%) were CALR-positive, and 2 (10.5%) patients were triple-negative. The group of ET without AVWS consisted of 46 (75.4%) patients with JAK2 V617F mutation, 10 patients (16.4%) with CALR mutation, 2 patients (3.3%) with MPL mutation and 3 patients triple-negative. We proved that the prevalence of AVWS may not be associated with any distinct molecular mutation. Secondly, the younger age may predispose to the development of AVWS, since patients with ET and concomitant AVWS were diagnosed in younger age. Thirdly, bleeding at the time of diagnosis occurs in a low percentage of symptomatic patients. Fourthly, prognosis of patients with AVWS is not worse than patients without the AVWS as there is no difference in survival between AVWS and no AVWS subgroups.

Plakaty

P1. RODZAJ MUTACJI W NADPŁYTKOWOŚCI SAMOISTNEJ MOŻE WPŁYWAĆ NA EFEKT DŁUGOTRWĄŁEGO LECZENIA ANAGRELIDE

dr hab. Maria Bieniaszewska¹,
dr Aleksandra Leszczyńska¹, prof. Wojciech Biernat²,
dr Magdalena Dutka¹, dr Andrzej Mital¹,
prof. Andrzej Hellmann¹

¹Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii, Gdański
Uniwersytet Medyczny

²Katedra i Zakład Patomorfologii, Gdański Uniwersytet
Medyczny

Wstęp: Anagrelide (ANG) jest lekiem obniżającym liczbę płytek, stosowanym zwykle w II linii terapii nadpłytkowości samoistnej (NS). Istnieje niewiele danych o zależności efektów długotrwałej terapii ANG i jej powikłaniach od rodzaju stwierdzonej mutacji NS.

Cel: Celem pracy była ocena skuteczności i powikłań terapii ANG w zależności od typu mutacji u pacjentów leczonych co najmniej 10 lat oraz ocena użyteczności powszechnych kryteriów odpowiedzi w ocenie tej grupy pacjentów.

Materiał i metody: Analizie retrospektywnej poddano grupę 48 chorych z NS (średni wiek badanych 34,3 roku): 16 (33%) z obecnością mutacji JAK2 V617F, 24 (50%) z mutacją CALR, 2 (4%) z nadpłytkowością MPL dodatnią i 6 (13%) z potrójnie negatywną chorobą, leczonych ANG przez 12,7 (10–17) roku. W ocenie odpowiedzi zastosowano kryteria *European Leukemia Net*.

Wyniki: Po 10 latach leczenia całkowitą remisję choroby zanotowano u, odpowiednio, 88% i 58% pacjentów w grupie z mutacją JAK2 i CALR. Jednakże u 7 pacjentów z obecnością mutacji CALR i włóknieniem MF-1 stwierdzonym *de novo* (w kontrolnym badaniu szpiku) sklasyfikowanych według kryteriów ELN jako całkowita remisja zanotowano progresję choroby w okresie następnego roku. Wykazano ponadto silną negatywną korelację stężenia erytropoetyny i hemoglobiny po 10 leczenia w grupie z obecnością mutacji CALR, w przeciwieństwie do pacjentów z JAK2-dodatnią chorobą.

Wnioski: Kryteria odpowiedzi na leczenie, szczególnie u pacjentów z obecnością mutacji CALR i leczonych ANG dłużej niż 5 lat, powinny uwzględniać zmianę statusu włóknienia z MF-0 na MF-1 jako utratę całkowitej remisji. U pacjentów z obecnością mutacji CALR zachowana jest długotrwale fizjologiczna odpowiedź regulacyjna erytropoetyny, w przeciwieństwie do pacjentów z chorobą JAK2-dodatnią.

broza (PMF). Kobiety z MPN w ciąży narażone są na wystąpienie zakrzepicy i powikłań położniczych: nawracających poronień, porodów przedwczesnych i zaburzeń wzrostu płodu.

Cel: Celem pracy była retrospektywna ocena przebiegu ciąży i porodu u chorych z nowotworami mieloproliferacyjnymi Ph-ujemnymi w ośrodkach PALG.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiło 40 kobiet leczonych w pięciu ośrodkach w Polsce. Wiek kobiet w momencie diagnozy wynosił od 18 do 35 lat, śr. 28, w momencie ciąży 19–49 lat (śr. 27,5). U 31 kobiet (77,5%) rozpoznano NS, u 3 (7,5%) CzP i u 6 (15%) PMF. U 21 (52,5%) kobiet stwierdzono obecność mutacji JAK2 V617F, u 8 (20%) mutacji CARL typu 1 lub 2, u 7 brak mutacji JAK2, a u 4 nie oceniono stanu mutacji. Okres objęty badaniem wynosił 21 lat. Zanotowano 69 ciąż.

Wyniki: Leczenie cytoredukcyjne przed ciążą stosowano u 34 (49,28%) kobiet: hydroksymocznik (HU), anagrelidynę (ANA) oraz INF α . Liczba płytek na początku ciąży wynosiła śr. 489,5 G/l (210 do 1500). Antykoagulację w postaci LMWH stosowano podczas 15 ciąż (21,74%), LMWH łącznie z ASA w czasie 9 ciąż (13,04%), samo ASA w czasie 23 ciąż (33,33%). W 31,88% (22 ciąż) antykoagulacji nie stosowano. W czasie ciąży INF α stosowano u ponad połowy ciężarnych (35 ciąż – 50,72%), w 1 ciąży (1,45%) zastosowano cytoaferezy, w pozostałych przypadkach (43,48% – 30 ciąż) nie było potrzeby cytoredukcji. Najwięcej, bo aż 17% poronień wystąpiło w I trymestrze ciąży. W II trymestrze było 5, a w III trymestrze jeden przypadek obumarcia płodu. Do końca III trymestru pozostało 51 żywych ciąż. Cięciem cesarskim ukończono 25 ciąż (49%), a porodem drogami natury 20 (39,2%). Liczba płytek podczas porodu wynosiła średnio 455 G/l (154–1008). Powikłania wystąpiły podczas 36 (29%) porodów. Cięższe kończyły się śr. w 37. tygodniu (23–39), a waga dzieci wynosiła śr. 3195 g (220–3910). Wykazano istotną statystycznie zależność ($p = 0,01$) pomiędzy obecnością powikłań przed ciążą i obecnością mutacji JAK2 ($p = 0,02$) a wystąpieniem powikłań w II trymestrze ciąży.

Wnioski: Obecność mutacji JAK2V617F i powikłań naczyniowych przed ciążą sprzyja wystąpieniu powikłań w II trymestrze ciąży. Nie wykazano natomiast związku pomiędzy liczbą płytek a wystąpieniem powikłań w czasie ciąży i porodu.

P2. CIĄŻA U PACJENTEK Z NOWOTWORAMI MIELOPROLIFERACYJNYMI PH-UJEMNYMI – BADANIE RETROSPEKTYWNE PALG

dr hab. n. med. Bożena Sokołowska¹,
dr n. med. Marta Sobas², dr n. med. Marta Robak³,
prof. dr hab. Krzysztof Chojnowski³,
prof. dr hab. Jacek Treliński³, dr n. med. Janusz Hałka⁴,
dr n. med. Dariusz Jawniak¹, dr hab. n. med. Marek Hus¹,
dr hab. n. med. Maria Bieniaszewska⁵

¹Katedra i Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

³Katedra i Klinika Hematologii w Łodzi

⁴Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie

⁵Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Nowotwory mieloproliferacyjne (NMP) Filadelfia-ujemne to: czerwienica prawdziwa (CzP), nadpłytkowość samoistna (NS) oraz pierwotna mielofi-

P3. DELECJA DŁUGIEGO RAMIENIA CHROMOSOMU 20 (20Q-) W GRUPIE PACJENTÓW Z NOWOTWOREM MIELOPROLIFERACYJNYM PH-UJEMNYM

Katarzyna Osmańska¹, Barbara Mucha¹,
Katarzyna Sobecka², Dominik Chraniuk³,
Małgorzata Calbecka⁴, Grażyna Gadomska⁵, Olga Haus^{1,6}

¹Katedra i Zakład Genetyki Klinicznej Wydział Lekarski Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

²Zakład Genetyki Medycznej, Instytut Matki i Dziecka w Warszawie

³Oddział Hematologii, Specjalistyczny Szpital Miejski im. Mikołaja Kopernika w Toruniu

⁴Bank Krwiotwórczych Komórek Macierzystych, Specjalistyczny Szpital Miejski im. Mikołaja Kopernika w Toruniu

⁵Klinika Hematologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

⁶Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Wstęp: Nowotwory mieloproliferacyjne (*myeloproliferative neoplasms* – MPNs) są klonalnymi chorobami komórek macierzystych szpiku, które charakteryzują się proliferacją jednej lub więcej linii krwiotworzenia. Do grupy MPNs Ph-ujemnych zalicza się: czerwienicę prawdziwą, nadpłytkowość samoistną oraz pierwotną mielofibrozę. Delecja 20q jest jedną z aberracji chromosomowych występujących w tej nie do końca poznanej pod względem podłoża genetycznego grupie chorób.

Cel: Celem badań było określenie częstości występowania delecji 20q oraz analiza typu i wielkości tej aberracji w grupie pacjentów z rozpoznaniem MPNs.

Materiał i metody: U 71 chorych z MPN wykonano badanie kariotypu metodą prążków GTG oraz badanie metodą porównawczej hybrydyzacji genomowej do mikromacierzy (*array comparative genomic hybridization* – aCGH). U tych z nich, u których stwierdzono delecję 20q, wykonano badanie techniką fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (*fluorescent in situ hybridization* – FISH) z zastosowaniem dwóch sond: 20q- (20q12)/20q11 (producent Leica) oraz AURKA (20q13)/20q11 (producent Leica).

Wyniki: Analiza aCGH wykazała obecność delecji 20q u 5 chorych (czterech z rozpoznaniem pierwotnej mielofibrozy oraz jednego z nadpłytkowością samoistną), co stanowi 7,0% badanej grupy, podczas gdy w analizie kariotypu aberrację stwierdzono u czterech chorych (5,6% grupy badanej). U trzech chorych delecja 20q nie była jedyną obserwowaną aberracją. Weryfikacja techniką FISH potwierdziła obecność oraz różną wielkość od 10,28 Mbp do 21,89 Mbp stwierdzonych delecji u pięciu chorych. Wszystkie zaobserwowane delecje 20q miały charakter interstycjalny. Minimalny

region delecji wspólny dla wszystkich chorych wynosił 7,26 Mbp i obejmował m.in. gen PTPRT, który koduje białko biorące udział w regulacji procesów komórkowych, takich jak wzrost czy różnicowanie, oraz gen MAFB kodujący białko będące czynnikiem transkrypcyjnym regulującym hematopoiezę.

Wnioski: Minimalny region delecji 20q wspólny dla wszystkich chorych obejmuje geny, których produkty odgrywają ważną rolę w procesach komórkowych, w tym w różnicowaniu się komórek podczas hematopoiezy. W regionie delecyjnym prawdopodobnie znajduje się kilka genów, których inaktywacja bądź delecja może prowadzić do rozwoju nowotworu. Potrzebne są dalsze badania, które umożliwią określenie wpływu delecji 20q oraz współistniejących aberracji na przebieg choroby u pacjentów.

P4. THE MOLECULAR PATHOGENESIS AND THE HEMATOLOGICAL AND CLINICAL ASPECTS OF MUTATIONS IN JAK2, MPL AND CALR GENES IN PRIMARY MYELOFIBROSIS

mgr Alicja Bartoszewska-Kubiak,
mgr Karolina Matiakowska, mgr Ewelina Bielińska,
mgr Małgorzata Morgut-Klimkowska,
prof. dr hab. Olga Haus

Faculty of Medicine, Department of Clinical Genetics, Bydgoszcz

Introduction: Primary myelofibrosis (PMF) is a BCR-ABL1-negative myeloproliferative neoplasm (MPN). PMF has the most heterogeneous clinical course among MPNs and is characterized by increased proliferation of megakaryocytes, progressive bone marrow fibrosis, extramedullary hematopoiesis, leukoerythroblastosis and shortened survival. The most common genetic alteration in PMF is JAK2V617F mutation, present in about 60% of patients. In about 10% of patients, MPL mutations are identified and in about 25% insertions/deletions of exon 9 of CALR gene. Mutations of these three genes are reciprocally exclusive. Moreover, PMF cases without any of these mutations are called “triple negative” and are associated with poor prognosis. Mutations in JAK2 and MPL genes lead to constitutive activation of JAK2/STAT signaling pathway that results in increased proliferation of myeloid and megakaryocytic progenitors in absence of TPO and EPO. CALR gene encodes calreticulin, a protein which plays role in intracellular signaling, Ca²⁺ storage, regulation of gene expression, cell adhesion, apoptosis and autoimmune response. The mechanism of cancer transformation depending on CALR mutations is still unknown but recent data suggest increased TPO-independent activation by mutant calreticulin.

Aim: The aim of the study was to evaluate mutational status of JAK2, MPL and CALR genes in Polish group of PMF patients and to assess the prognostic significance of the mutations in this cohort.

Material and methods: JAK2/V617F and MPL/W515K/L mutation status were assessed using AS-PCR. Direct sequencing was performed to detect insertion/deletion of exon 9 of CALR gene. CALR mutation type was classified according to Klampfl et al. Relationship between the presence or absence ("triple negative") of these mutations and hematological and clinical data of patients was analyzed with Mann-Whitney U test.

Results and conclusions: Of the 113 patients studied, 44 (43%) carried JAK2/V617F, 25 (24%) CALR exon 9 indel, 3 (3%) MPLW515 mutation, and 32 (31%) were "triple negative". Most patients with a CALR gene mutation harboured type 1 (12 cases) and type 2 (6 cases) mutations. We found significant correlation between high WBC count and JAK2/V617F mutation ($p = 0.004$), and between high platelet (PLT) count and both; CALR mutation ($p = 0.027$) and "triple negative" status ($p = 0.0012$). We have not found, however, any significant relationship between clinical parameters (sex, age) and the presence of analyzed mutations.

P5. THE CLINICAL CHARACTERISTICS OF ESSENTIAL THROMBOCYTHEMIA PATIENTS DEPEND ON THE MUTATION STATUS

**dr Witold Prejzner, Andrzej Mital,
Maria Bieniaszewska, Aleksandra Leszczyńska,
Agata Szymańska, Andrzej Hellmann**

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Introduction: Mutations in the calreticulin (CALR) gene have recently been discovered in the patients with essential thrombocythemia (ET) who are lacking mutations in either Janus kinase 2 (JAK2) or myeloproliferative leukaemia protein (MPL) genes. The impact of the mutation status on the clinical course and on the outcome of ET patients has not yet been completely established.

Aim: The aim of the study was to determine whether the mutation status has any influence on the clinical characteristics of the patients with ET.

Material and methods: A cohort of 171 patients with diagnosed ET were tested and subsequently grouped according to their mutation status. The groups were compared in terms of their demographic characteristics, the clinical parameters at the diagnosis, the thrombotic and the transformation risks as well as the overall survival (OS). The clinical features of ET patients are presented in relation to the mutation status.

Results and conclusions: The frequencies of JAK2, CALR, MPL mutations and of triple-negative subjects (all three genes non-mutated) were 65%, 21%, 3% and 11% respectively. CALR-mutated patients preferentially were male, with higher platelets counts and lower haemoglobin and haematocrit levels at the diagnosis, compared to the JAK2, MPL and triple-negative patients. The patients with CALR, MPL mutations or the triple-negative ones had a lower risk of arterial and venous thrombosis than the patients with JAK2 mutation. The OS did not differ statistically between the groups. The CALR-mutated patients displayed a distinct phenotype in comparison to the JAK2, the MPL and the triple-negative patients thus, possibly, a different treatment strategy should be implemented for these groups of patients.

P6. ZASTOSOWANIE AZACYTYDYN W LECZENIU OSTREJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ Z CECHAMI DYSPLAZJI I ZŁOŻONYM KARIOTYPEM POPRZEDZONEJ NADPŁYTKOWOŚCI SAMOISTNĄ – OPIS PRZYPADKU

dr Magdalena Małek

Katedra i Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Nadpłytkowość samoistna jest nowotworem mieloproliferacyjnym o najbardziej korzystnym rokowaniu, biorąc pod uwagę całkowite przeżycie (OS) i częstość transformacji do ostrej białaczki szpikowej. Potencjalne działanie leukemogenne hydroksymocznika jest przedmiotem kontrowersji, ponieważ brakuje dużych badań prospektywnych dotyczących tego zagadnienia. Transformacja do ostrej białaczki szpikowej w przebiegu nadpłytkowości samoistnej wiąże się ze złym rokowaniem, częstym występowaniem złożonego karyotypu oraz kilkumiesięcznym przeżyciem.

Cel: Przedstawiamy opis przypadku 69-letniej chorej z wieloletnim wywiadem nadpłytkowości samoistnej, leczonej hydroksymocznikiem, w przebiegu której wystąpiła ewolucja do pierwotnej mielofibrozy, a następnie transformacja do ostrej białaczki szpikowej z cechami dysplazji i złożonym karyotypem.

Materiał i metody: Zastosowanie azacytydyny u przedstawionej chorej pozwoliło uzyskać częściową remisję ostrej białaczki szpikowej i niezależnienie od przetoczeń. Pacjentka nie wyraziła zgody na przeszczepienie allogenicznym krwiотwórczym komórek macierzystych (allo-HSCT). Do chwili obecnej pacjentka otrzymała 7 cykli leczenia azacytydyną i pozostaje w dobrym stanie ogólnym. Czas od rozpoznania wtórnej ostrej białaczki szpikowej wynosi aktualnie 10 miesięcy.

Wyniki i wnioski: Azacytydyna może stanowić obiecującą opcję terapeutyczną w leczeniu wtórnej ostrej białaczki szpikowej, poprzedzonej nadpłytkowością samoistną u starszych chorych, u których zastosowanie allo-HSCT nie jest możliwe.

STANDARYZACJA W BIOLOGII MOLEKULARNEJ

PRZEWODNICZĄCY: W. MŁYNARSKI (ŁÓDŹ), M. LIBURA (WARSZAWA)

Doniesienia ustne

POLIMORFIZMY REGIONU PROMOTOROWEGO GENU KODUJĄCEGO CEREBLON JAKO CZYNNIK PREDYKCYJNY DLA CHEMIOTERAPII Z TALIDOMIDEM, CYKLOFOSFAMIDEM I DEKSAMETAZONEM (CTD) U CHORYCH NA SZPICZAKA PLAZMOCYTOWEGO

lek. med. Aneta Szudy-Szczyrek¹,
dr n. med. Radosław Mlak²,
dr n. med. Michał Szczyrek^{3,4},
dr n. med. Sylwia Chocholska¹,
dr n. med. Wojciech Legieć^{1,5},
dr hab. n. med. Teresa Małecka-Massalska²,
dr hab. n. med. Marek Hus¹

¹Katedra i Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Katedra i Zakład Fizjologii Człowieka, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Katedra Interny z Zakładem Pielęgniarstwa Internistycznego, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁴Katedra i Klinika Pneumonologii, Onkologii i Alergologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁵Samodzielna Pracownia Transplantologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Kluczem do zrozumienia mechanizmu działania talidomidu było odkrycie cereblonu (CRBN) – białka, które stanowi wspólny cel molekularny dla leków immunomodulujących (*immunomodulatory drugs* – ImiDs) i odpowiada za ich aktywność antyproliferacyjną, antyangiogenną i immunomodulującą oraz występowanie powikłań teratogennych. Udowodniono, że wysoka ekspresja CRBN u chorych na szpiczaka plazmocytozowego (*multiple myeloma* – MM) wiąże się z dobrą odpowiedzią kliniczną, natomiast wyłączenie genu CRBN w liniach komórkowych i niska ekspresja białka warunkuje oporność na leczenie. Polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (*single nucleotide polymorphisms* – SNPs) należą do czynników, które potencjalnie mogą regulować poziom ekspresji lub funkcjonowanie CRBN.

Cel: Celem pracy było określenie wpływu wybranych SNPs (rs6768972 oraz rs1672753) zlokalizowanych w regionach regulatorowych genu CRBN na skuteczność chemioterapii CTD u chorych z rozpoznaniem MM *de novo*.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiło 68 chorych na MM w wieku 39–87 lat (mediana 62), u których w leczeniu I linii zastosowano schemat CTD (mediana cykli 6, zakres 1–12). Mediana okresu obserwacji wynosiła 27 miesięcy (zakres 2–130). Materiał badawczy stanowiło DNA wyizolowane z leukocytów krwi obwodowej. Do analizy SNPs genu CRBN wykorzystano metodę genotypowania techniką Real-Time PCR z użyciem sond Taqman. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu oprogramowania MedCalc15.8 i Statistica10. Do oceny prawdopodobieństwa przeżycia i wystąpienia progresji w zależności od dystrybucji badanych czynników wykorzystano metodę estymacji Kaplana-Meiera oraz regresję logistyczną Coxa.

Wyniki i wnioski: Oba badane SNPs istotnie wpływały na czas wolny do progresji choroby (*progression free survival* – PFS). U pacjentów z genotypem AA (rs6768972) odnotowano wydłużenie PFS w porównaniu z chorymi z pozostałymi wariantami polimorficznymi genu CRBN (18 vs 9 miesięcy; HR = 0,49, 95% CI: 0,26–0,91, $p = 0,0062$). Istotne skrócenie PFS stwierdzono natomiast u nosicieli genotypu AC (rs6768972) (10 vs 17 miesięcy; HR = 1,89, 95% CI: 1,00–3,56, $p = 0,0179$) oraz u chorych z genotypem CC (rs1672753) (4 vs 16 miesięcy; HR = 3,93, 95% CI: 0,26–59,64, $p = 0,0321$). Żaden z badanych SNPs genu CRBN nie wpływał znacząco na całkowite przeżycie w badanej grupie. SNPs genu CRBN (rs6768972, rs1672753) są istotnymi, niezależnymi czynnikami predykcyjnymi skuteczności pierwszorazowej chemioterapii CTD u chorych na MM i mogą być użyteczne w kwalifikacji chorych do leczenia talidomidem.

Plakaty

P1. NIEINWAZYJNE USTALANIE GRUPY KRWI PŁODU U ZIMMUNIZOWANYCH KOBIET CIĘŻARNYCH POPRZECZ ANALIZĘ WOLNOKRĄŻĄCEGO DNA PŁODU W OSOCZU MATKI TECHNIKĄ SEKWENCJONOWANIA NASTĘPNEJ GENERACJI

dr n. biol. Agnieszka Orzińska¹, Katarzyna Guz¹,
Michał Mikula², Anna Kluska², Aneta Balabas²,
Maria Kulecka², Jerzy Ostrowski²,
Małgorzata Uhrynowska¹, Marzena Dębska³,
Katarzyna Luterek⁴, Mirosław Wielgoś⁴, Ewa Brojer¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

³Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

⁴Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Wytworzenie przeciwciał odpornościowych do antygenów obecnych na krwinkach czerwonych lub płytkowych dziecka w trakcie ciąży może prowadzić do choroby hemolitycznej (ChHPN) lub alloimmunologicznej małopłytkowości płodu i noworodka (AIMPN). Jednakże jeśli płód nie odziedziczył po ojcu immunogennego antygeny, przeciwciała nie są groźne dla obecnej ciąży. Nieinwazyjna diagnostyka genów kodujących antygeny krwinek czerwonych i płytkowych pozwala ustalić, czy płód jest zgodny z matką. Czułość i specyficzność techniki sekwencjonowania następnej generacji (NGS) daje możliwość określania chimeryzmu maczyno-płodowego w zakresie badanych antygenów, szczególnie tych, w których podłożem genetycznym jest polimorfizm jednego nukleotydu.

Cel: Opracowanie protokołu nieinwazyjnych badań prenatalnych techniką NGS istotnych klinicznie antygenów krwinki czerwonej i płytkowej.

Materiał i metody: DNA z osocza 14 kobiet ciężarnych z przeciwciałami: anti-HPA-1a (2), anti-HPA-5b (1), anti-HPA-3b (1), anti-K (3), anti-k (1), anti-D+E+K (1), anti-D+C+Jka (1), anti-Fya (1), lub bez przeciwciał (3) i od 4 dawców (o znanym genotypie i fenotypie antygenów) wyizolowano na aparacie easyMag (Biomérieux). Za pomocą Ion AmpliSeq Designer zaprojektowano mieszaninę starterów do specyficznych dla regionów kodujących swoistości RhD, RhC/c, RhE/e, K/k, Fya/b, Jka/b, MN, Ss, HPA-1, 2, 3, 5, 15 i 4 polimorfizmów z chromosomu X (jako markera kontrolnego dla obecności DNA płodu). Utworzone przy pomocy zaprojektowanych starterów biblioteki zsekwencjonowano na aparacie Ion Torrent PGM (Thermo).

Wyniki i wnioski: Uzyskane techniką NGS wyniki były zgodne z fenotypem lub genotypem dawców, kobiet ciężarnych i ich dzieci, poza antygenami MN, dla których nie zaszła reakcja sekwencjonowania. Zastosowany protokół pozwolił wykryć w DNA z osocza ciężarnej niezgodność między matką a płodem dotyczącą antygenów: HPA-1a, -2b, -3a, -3b, -5b, -15a, -15b, RhE, K, k, Jka, Jkb, Fya, Fyb, S (chimeryzm płodowy wynosił od 0,23% do 4,8%), oraz RhD, Rhc (chimeryzm płodowy ok. 100%). Technologia NGS umożliwia przewidywanie genotypu zarówno HPA-1a płodu, jak i innych istotnych klinicznie antygenów krwinki czerwonej i płytkowej.

TRANSFUZJOLOGIA 2 – IMMUNOLOGIA TRANSFUZJOLOGICZNA

PRZEWODNICZĄCY:

E. BROJER (WARSZAWA),

J. FABIJAŃSKA-MITEK (WARSZAWA)

Doniesienia ustne

GLIKOZYLACJA *EX VIVO* ERYTROCYTÓW GRUPY P2 ZA POMOCĄ REKOMBINOWANEJ SYNTAZY P1/PK POZWALA NA OTRZYMANIE ERYTROCYTÓW GRUPY P1

dr Radosław Kaczmarek¹,
mgr Katarzyna Szymczak-Kulus¹,
mgr Anna Bereźnicka¹, Krzysztof Mikołajczyk¹,
prof. Marcin Czerwiński^{1,2},
dr Bogumiła Michalewska³, prof. dr hab. Ewa Brojer⁴

¹Laboratorium Glikobiologii, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław

²Faculty of Physical Education and Physiotherapy, Opole University of Technology, Opole

³Pracownia Immunologii Krwinek Czerwonych, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁴Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Ludzka syntaza P1/Pk, kodowana przez gen A4GALT, syntetuje 2 lub 3 cukrowe antygeny układu grupowego krwi P1PK w zależności od tego, czy w pozycji 211 łańcucha polipeptydowego enzymu znajduje się reszta Gln czy Glu: enzym z resztą Gln syntetuje antygeny P1 i Pk, natomiast enzym z resztą Glu syntetuje wszystkie 3 antygeny P1PK. Antygeny układu P1PK są glikosfingolipidami. Antygeny Pk i P1 mają taki sam terminalny disacharyd Gal α 1,4Gal, natomiast NOR zakończony jest sekwencją Gal α 1,4GalNAc. Gdy antygen P1 jest obecny na erytrocytach, mamy do czynienia z grupą P1, z kolei grupa P2 oznacza brak antygeny P1. Wykazano, że rekombinowana konsensowa forma syntazy P1/Pk wytwarza *in vitro* antygeny P1 i Pk, natomiast jej wariant z podstawieniem p.Gln211Glu syntetuje wszystkie 3 antygeny: P1, Pk i NOR [Kaczmarek R. et al., 2016].

Cel: Określenie zdolności rekombinowanej syntazy P1/Pk do syntezy antygeny P1 na powierzchni erytrocytów grupy P2.

Materiał i metody: Erytrocyty grupy P2, inkubowane wcześniej z papainą, poddano działaniu rekombinowanej syntazy P1/Pk otrzymanej w komórkach owadzych Sf9. Erytrocyty te analizowano za pomocą cytometrii przepływowej z użyciem ludzkiego monoklonalnego przeciwciała anti-P1 (Immucor, klon P3NIL100; rozpoznaje tylko P1).

Wyniki i wnioski: Erytrocyty grupy P2 poddane działaniu rekombinowanej syntazy P1/Pk były rozpoznawane przez przeciwciała anti-P1 tak jak erytrocyty grupy P1. Rekombinowana syntaza P1/Pk jest zdolna do przenoszenia reszt galaktozy na paraglobozyd (prekursor P1) zakotwiczonej w błonie komórkowej erytrocytów. W wyniku tej reakcji fenotyp erytrocytów ulega zmianie z P1 na P2. Uzyskane wyniki dowodzą, że fenotyp erytrocytów można zmienić *ex vivo* nie tylko przez usunięcie determinant antygenowych, lecz także poprzez syntezę determinant na powierzchni komórek.

Introduction: Human α 1,4-galactosyltransferase (Gb3/CD77 synthase, P1/Pk synthase), encoded by A4GALT, synthesizes 2 or 3 carbohydrate antigens of the P1PK blood group system depending on the amino acid position 211: presence of Q causes synthesis of Pk and P1 antigens, while E in addition allows synthesis of NOR (Suchanowska, JBC, 2012). P1, Pk and NOR antigens are carried by glycosphingolipids: P1 and Pk terminate with Gal α 1,4Gal disaccharide, while NOR terminates with Gal α 1,4GalNAc. P1, Pk and NOR antigens are carried by glycosphingolipids: P1 and Pk terminate with Gal α 1,4Gal disaccharide and have long been thought to be synthesized by the consensus enzyme (encoded by A4GALT), while NOR terminates with Gal α 1,4GalNAc. The presence or absence of P1 antigen determines the P1 or P2 blood group, respectively. Recently, we obtained recombinant forms of the consensus enzyme and its p.Q211E variant, and showed that they can synthesize Pk and P1 antigens or Pk, P1 and NOR antigens, respectively (Kaczmarek et al., BBRC, 2016).

Aim: To evaluate whether a recombinant catalytic domain of the P1Pk synthase is able to synthesize the P1 antigen on the surface of P2 red blood cells.

Material and methods: Papain-treated P2 blood group red cells were incubated in reaction mixtures containing UDP-galactose and recombinant P1/Pk synthase obtained in baculovirus expression vector system. The cells were then analyzed by flow cytometry using human monoclonal anti-P1 antibody (Immucor, clone P3NIL100; recognizes P1 only).

Results and conclusions: P2 blood group red cells treated with recombinant P1/Pk synthase behaved like P1 cells in flow cytometry. The P1 signal strength was dependent on enzyme dose. We found that recombinant human P1/Pk synthase efficiently transfers galactose residues to the precursor of P1 (paragloboside) on the surface of red blood cells, turning P2 blood group erythrocytes into P1 blood group cells. This is a proof of concept that phenotype of erythrocytes may be changed not only by enzymatic removal, but also by *ex vivo* synthesis of blood group determinants.

Plakaty

P1. BADANIE ZMIAN STĘŻENIA KRWIENEK PŁODU RHD(+) W KRAŻENIU MATKI RHD(-) Z MASYWNYM PRZECIEKIEM PŁODOWO-MATCZYNYM PO PODANIU IMMUNOGLOBULINY ANTY-RHD

dr n. med. Aleksandra Teodorczyk-Winnicka¹,
mgr Ewa Embinger-Paprotka¹, mgr Anna Tatarczak¹,
lek. med. Magdalena Hempel¹,
lek. med. Hanna Radwan-Wieczorek¹,
lek. med. Dorota Kosińska²,
dr n. med. Aleksandra Stupak²,
dr n. med. Arkadiusz Krzyżanowski²,
prof. dr hab. n. med. Anna Kwaśniewska²

¹Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Lublinie

²Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 1 w Lublinie

Wstęp: Przeciek płodowo-matczyny (FMH) stanowi poważne powikłanie ciąży, ma istotne znaczenie w diagnostyce niedokrwistości noworodków. W przypadku konfliktu RhD umożliwia określenie wielkości FMH i podanie matce adekwatnej dawki immunoglobuliny anti-RhD.

Cel: Celem pracy była analiza zmian stężenia krwinek płodu RhD(+) w krążeniu matki RhD(-) po podaniu kolejnych dawek immunoglobuliny anti-RhD.

Materiał i metody: Pacjentka A.Ż., lat 32, ciąża II, poród II, 38/39 hbd, grupa krwi O RhD(-), bez przeciwciał odpornościowych. Pacjentka w 28 hbd otrzymała, w ramach immunoprofilaktyki śródciażowej, 300 µg immunoglobuliny anti-RhD. Ciąża rozwiązana cesarskim cięciem. Noworodek żywy, stwierdzono blade zabarwienie powłok ciała. W badaniu morfologicznym krwi: Ht 19,7%, Hb 6,1 g/dl, grupa krwi O RhD(+). Stwierdzono ciężką niedokrwistość i wdrożono leczenie: 100 ml NUKKcz. Matka otrzymała 300 µg immunoglobuliny anti-RhD. W celu wyjaśnienia przyczyny anemizacji noworodka wykonano badanie FMH. Badanie wykonano techniką cytometrii przepływowej, z wykorzystaniem zestawu CE IVD Fetal Cell Count Kit.

Wyniki: W badaniu 1. wykonanym w ciągu 24 godzin stwierdzono masywne FMH – stężenie RBC płodu wynosiło 4,3% (215 ml krwi pełnej płodu). W badaniu grupy krwi matki techniką mikrokolumnową zaobserwowano obecność krwinek RhD-ujemnych i RhD-dodatnich. Po konsultacji w IHiT matce podano uzupełniającą dawkę immunoglobuliny (Rhophylac 300 µg) i zlecono kontrolę wielkości FMH po 72 godzinach. W badaniu 2. stwierdzono 5,06% RBC płodu (253 ml krwi pełnej płodu). Pacjentka otrzymała kolejne 600 µg preparatu Rhophylac. W kolejnych badaniach (3. i 4.) wykonywanych co 72 godziny FMH wynosiło odpowiednio 181 ml i 108 ml krwi pełnej płodu. Pacjentka otrzymała dwukrotnie, co 72 godziny, po 600 µg immunoglobuliny. W badaniu 5., po podaniu łącznie 2400 µg

preparatu Rhophylac, stwierdzono brak RBC płodu w krwi matki. W kontrolnym badaniu wykonanym po kolejnych 72 godzinach potwierdzono brak krwinek płodu we krwi matki. Pacjentce zalecono za 3 miesiące kontrolę w RCKiK w kierunku obecności przeciwciał odpornościowych anty-RhD.

Wnioski: Cytometryczna analiza krwinek płodowych w krążeniu matki pozwala na szybkie i precyzyjne wykrycie FMH. W przypadku konfliktu serologicznego RhD umożliwia podanie matce adekwatnej dawki immunoglobuliny anty-RhD i monitorowanie zmian stężenia erytrocytów płodu w krążeniu matki, a w konsekwencji skuteczną immunoprofilaktykę.

P2. ALLOIMMUNOLOGICZNA MAŁOPŁYTKOWOŚĆ PŁODU I NOWORODKA (AIMPN) – OPIS DWÓCH PRZYPADKÓW

lek. med. Dioniza Marciniak-Bielak¹,
lek. med. Małgorzata Wiśniewska¹, mgr Bożena Cyran²

¹Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Łodzi

²Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi

Wstęp: AIMPN może wystąpić u 1/1000 noworodków już w pierwszej ciąży w wyniku immunizacji matki antygenami HPA płodu, które odziedziczył po ojcu. W 80–85% przypadków jest spowodowana przeciwciałami anty-HPA-1a. 2% populacji stanowią kobiety HPA-1a-ujemne. Krwawienie do ośrodkowego układu nerwowego (OUN) jest największym zagrożeniem, śmiertelność 15%. Leczenie: IVIG, sterydy, transfuzje KKP.

Cel: Przedstawienie problemów diagnostycznych i leczniczych na podstawie 2 przypadków.

Materiał i metody: Przypadek 1. Ciężarna, 46 lat, CIPII, przyjęta 5.12.2016 r. do Kliniki Położnictwa w 33 hbd, zdrowa bez małopłytkowości. W USG 29.11.2016 r. krwiak w OUN płodu. W próbce krwi ciążarnej pobranej 8.12.2016 r. nie wykryto antygenu HPA-1a, wykryto przeciwciała anty-HPA-1a. Włączono IVIG i sterydy. Dwa dni przed porodem pobrano od ciężarnej KKP z aferezy. 21.12.2016 r. w 36 hbd wykonano zabieg kordocentezy i podano NUKKP-Af. od matki w roztworze NaCl i wykonano cięcie cesarskie. Noworodek „s”, 2900 g, 10 Apgar, PLT $56 \times 10^3/\mu\text{l}$. Przetoczono NUKKP-Af. od matki w osoczu AB i 2 dni podawano IVIG. Po przetoczeniu KKP 22.12.2016 r. PLT 324 tys., 23.12.2016 r. – 220 tys. Przypadek 2. Ciężarna, 29 lat, CIPI, zdrowa bez małopłytkowości. 21.09.2016 r. w próbce krwi ciążarnej nie wykryto antygenu HPA-1a i nie wykryto przeciwciał anty-HPA-1a w teście MAIPA. W USG w 27 hbd zmiany torbielowate w OUN. Ciężarna przyjęta 12.01.2017 r. do Kliniki Położnictwa. 17.01.2017 r. cięcie cesarskie ze względu zmiany w OUN u płodu. Noworodek „s”, 3760 g, 8 Apgar, liczne wybroczyny i zasinienia na skórze,

PLT 6 tys. Przetoczono NUKKP-Af od dawcy HPA – 1a-ujemny w osoczu grupy AB. Włączono IVIG i sterydy. 9 przetoczeń NUKKP-Af. HPA-1a-ujemny (1 KKP od matki grupy O RhD-dodatni w osoczu grupy AB), 3 NUKKP-Af. od dawcy przypadkowego. W okresie 5,5 tygodnia przetoczono 12 razy KKP. 17.01.2017 r. pobrano próbkę krwi pępowinowej i próbkę krwi matki. Nie wykryto przeciwciał anty-HPA-1a w teście MAIPA. Genotyp antygenów płytkowych u noworodka: HPA-1 A/B, u matki: HPA-1 B/B. 24.01.2017 r. w osoczu matki przy użyciu płytek krwi ojca dziecka nie wykryto przeciwciał. 08.02.2017 r. wykryto przeciwciała anty-HPA-1a w teście Luminex (MAIPA mniejsza czułość) z próbki krwi matki pobranej 19.09.2016 r. i 27.02.2017 r.

Wyniki i wnioski: Prezentowane przypadki AIMPN mają na celu zwrócenie uwagi na możliwość wystąpienia tego rzadkiego zespołu i na zagrożenie zdrowia i życia dziecka w przypadku zbyt późnego rozpoznania i wdrożenia skutecznego leczenia. Rozpoznanie przypadkowo w wyniku diagnostyki powikłań u dziecka.

Introduction: FNAITH can occur in 1/1000 newborns in the first pregnancy as a result of mother's immunization with fetus's HPA antigens, which were inherited from its father. 80-85% of cases are caused by anti-HPA-1a antibodies. 2% of the population are negative HPA-1a women, 10% of them develop anti-HPA-1a antibodies. CNS hemorrhage is the greatest risk with a mortality rate of 15%. Treatment: IVIG, steroids, platelet transfusions.

Aim: Presentation of diagnostic and therapeutic problems based on 2 cases.

Material and methods: Case 1. 5.12.2016 pregnant woman (46 y.o., CIPII, 33 hbd) without thrombocytopenia admitted to obstetric clinic. 29.11.2016 foetal USG showed hematoma in the CNS. In a pregnant woman's blood sample taken 8.12.2016 no HPA-1a antigen but anti-HPA-1a was detected. IVIG and steroids included into the treatment. 21.12.2016 (36 hbd) cordocentesis was performed. Irradiated APCs collected from mother (2 days before childbirth) and suspended in NaCl were given to the baby. Caesarean section was performed. Newborn boy: 2900 g, 10 Apgar, PLT $56 \times 10^3/\mu\text{l}$, received PLTs from mother suspended in AB plasma, and IVIG for 2 days. 22.12.2016 PLT count was $324 \times 10^3/\mu\text{l}$, 23.12.2016 – $220 \times 10^3/\mu\text{l}$. Case 2. Pregnant woman (29 y.o., CIPI) without thrombocytopenia. 21.09.2016 – no HPA-1a antigen and no anti-HPA-1a antibodies detected in the woman's blood sample (MAIPA test). 27 hbd – foetal USG showed cystic changes in the CNS. 12.01.2017 the pregnant admitted to obstetric clinic. 17.01.2017 caesarean section performed due to changes in CNS. Newborn boy: 3760 g, 8 Apgar, PLT $6 \times 10^3/\mu\text{l}$, numerous effusion on the skin. The baby received irradiated APCs from HPA-1a negative donor suspended in AB plasma, IVIG and steroids and 9 transfusions APCs (1 from the mother of 0 positive group suspended in AB plasma, 3 from the acci-

dental donor). The platelets transferred 12 times in five and a half weeks. 17.01.2017 umbilical cord blood sample and mother blood sample collected, no anti-HPA-1a detected in MAIPA. Platelet antigen in neonate: HPA-1 A/B, in mother: HPA-1 B/B. 24.01.2017 antibodies were not detected in the mother's plasma using the father's blood platelets. 08.02.2017 anti-HPA-1a detected in the Luminex test (MAIPA less sensitive) from blood samples collected on 19.09.2016.

Results and conclusions: The presented AIMPN cases aim to draw attention to the threat to the health and life of the child in case of too late recognition and implementation of effective treatment.

P3. CHOROBA HEMOLITYCZNA NOWORODKA SPOWODOWANA PRZECIWCIAŁAMI ANTY-BEA

**mgr Monika Pelc-Kłopotowska¹, Rosalind Laundry²,
mgr Ewa Buś-Poniatowska³, Shane Grimsley²,
mgr Agnieszka Kowalska¹,
dr Bogumiła Michalewska¹, Nicole Thornton²,
prof. Ewa Brojer¹**

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²International Blood Group Reference Laboratory, NHS Blood and Transplant, Bristol, United Kingdom

³Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Kaliszu

Wstęp: Przeciwciała do antygenu o niskiej częstotliwości występowania mogą być przyczyną groźnej dla życia płodu/novorodka choroby hemolitycznej (ChHN/P). Takie przypadki są opisywane rzadko. Wystąpienie ChHN/P z powodu takich przeciwciał u matki jest zaskoczeniem dla położników i sprawia istotne problemy diagnostyczne. Wynik badania przeglądowego na obecność przeciwciał odpornościowych jest nieinformacyjny, ponieważ krwinki wzorcowe rzadko mają antygeny o niskiej częstotliwości występowania. Przedstawiamy przypadek ChHP/N spowodowanej alloprzeciwciałami anty-Bea (RH36) występującego na krwinkach czerwonych z częstotliwością < 0,1%.

Cel: Opis przypadku: 33-letnia kobieta, u której w badaniu przeglądowym w aktualnej oraz poprzedniej ciąży nie wykryto alloprzeciwciał do krwinek czerwonych, urodziła dziecko z cechami niedokrwistości: eryt: $3,63 \times 10^{12}/l$, Hb: 8.2 mmol/l, Ht: 0.375/l, reticulocytes: 98%, bilirubina: 228,7 μmol/l. Dziecko było poddane fototerapii i leczone immunoglobuliną IVlg (KIOVIG). W próbkach krwi matki pobranych po porodzie stwierdzono dodatnie reakcje tylko z krwinkami czerwonymi ojca. Dziecko zostało wypisane ze szpitala 4 dni później, a po miesiącu w badaniu kontrolnym poziom Hb wynosił 11 mmol/l.

Materiał i metody: BTA u dziecka wykonano techniką mikrokolumnową (DiaMed/BioRad). Eluat wykona-

no metodą kwaśnej elucji (DiaCidel BioRad). Badania serologiczne przeprowadzono techniką probówkową PTA/LISS oraz mikrokolumnową PTA LISS (DiaMed/BioRad). DNA genomowe wyizolowano z krwi pełnej i sekwencjonowano eksony 1-10 genu RHCE.

Wyniki: BTA krwinek noworodka był dodatni z anty-IgG, eluat reagował tylko z erytrocytami ojca. Surowica matki reagowała z krwinkami ojca oraz z krwinkami Be(a+). Na krwinkach ojca i dziecka wykryto antygen Bea, krwinki matki oznaczono jako Be(a-). Sekwencjonowanie pozwoliło wykryć w eksonie 5 genu RHCE heterozygotyczną mutację 662C>G, której wynikiem była zamiana w białku RhCcEe Pro w Arg w pozycji 221. Zidentyfikowano oczekiwane polimorfizmy w eksonie 2 i 5 charakterystyczne dla genotypu RHCE*ce/ceBE.

Wnioski: Przedstawiony przypadek jest czwartym opisanym dotychczas w literaturze przypadkiem przeciwciał anty-Bea wykrywanych również u kobiety po porodzie, który był przyczyną ChHP/N w drugiej ciąży. Jest to kolejny dowód świadczący o klinicznym znaczeniu przeciwciał skierowanych do antygenów o niskiej częstotliwości występowania.

P4. PRZYDATNOŚĆ OZNACZEŃ GENOTYPU KRWINEK CZERWONYCH W RUTYNOWYCH BADANIACH PRZEDTRANSFUZYJNYCH U PACJENTÓW IHIT

**mgr Beata Wojciechowska, dr Katarzyna Guz,
dr Agnieszka Orzińska, mgr Monika Pelc-Kłopotowska,
mgr Katarzyna Kuziora, mgr Justyna Bednarz,
dr Bogumiła Michalewska, prof. Ewa Brojer**

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Badania przedtransfuzyjne mają na celu zapewnienie bezpieczeństwa przetoczenia składników krwi pod względem immunologicznym. W przypadku pacjentów z niedokrwistością autoimmunohemolityczną (NAIH) oraz biorców krwi po licznych przetoczeniach krwinek czerwonych w ciągu poprzedzających 3 miesięcy wyniki badań serologicznych są często obciążone ryzykiem błędu. W IHIT obok wysokospecjalistycznych badań serologicznych wykonywane są rutynowo w przypadkach tego wymagających badania genotypu antygenów krwinek czerwonych.

Cel: Analiza przydatności badań genotypu antygenów krwinki czerwonej metodą biologii molekularnej u pacjentów IHIT wymagających przetoczenia krwi w latach 2015–2016.

Materiał i metody: Analizowano wyniki oznaczania fenotypu z wykorzystaniem odczynników monoklonalnych oraz wykrywania alloprzeciwciał maskowanych obecnością autoprzeciwciał u pacjentów leczonych w IHIT w latach 2015–2016. Fenotyp oznaczany był w każdym przypadku konieczności identyfikacji allo-

przeciwciał oraz u chorych z NAIH w celu dobrania krwi zgodnej fenotypowo. Wykonano 602 badania serologiczne, w tym dla 79 pacjentów z NAIH (oznaczenie fenotypu, identyfikacja alloprzeciwciał, różnicowanie auto- i alloprzeciwciał); u 28 pacjentów wykonano oznaczenie genotypu za pomocą testów RBC Ready Gene-ABO, -vERYfy (do 04.2015) lub FluoGene RBC-vERYfy, -ABO, -Rare, -CDE (od maja 2015 r.) firmy Inno-Train.

Wyniki: 28 pacjentów wymagało wykonania oznaczenia genotypu z uwagi na problemy w oznaczeniach metodą serologiczną. U 4 pacjentów niemożliwe było ustalenie grupy krwi w układzie ABO i RhD z powodu obecności zimnych autoaglutynin; w 5 przypadkach fenotyp w układzie Rh oznaczony metodą serologiczną był wątpliwy z powodu obecności dwóch populacji krwinek; u 8 chorych po przeszczepieniu niezbędne było genotypowanie w zakresie układów klinicznie istotnych (chimeryzm). W analizowanym okresie 41/79 pacjentów z NAIH wymagało wykonania alloadsorpcji; u 20/41 pacjentów oznaczenie genotypu ułatwiło dobranie odpowiednich krwinek do adsorpcji i znacznie skróciło czas badania.

Wnioski: Genotypowanie krwinek czerwonych u pacjentów z NAIH jest niekiedy jedyną metodą na wytypowanie zgodnego pod względem fenotypu dawcy. Znajomość fenotypu krwinek czerwonych biorcy na podstawie określonego genotypu w znaczący sposób ułatwia i przyspiesza wykonanie badań przedtransfuzyjnych.

P5. PRZECIWCIAŁA ANTY-D I ANTY-G WYKRYWANE U PACJENTÓW Z ODMIANAMI ANTYGENU D

mgr Monika Pelc-Kłopotowska¹, dr Katarzyna Guz¹, dr Agnieszka Orzińska¹, mgr Justyna Bednarz¹, mgr Magdalena Matejko², mgr Jolanta Walenciak³, mgr Anna Walaszczyk⁴, mgr Barbara Strażnikiewicz⁵, prof. Ewa Brojer¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Krakowie

³Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Olsztynie

⁴Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Warszawie

⁵Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Opolu

Wstęp: Krwinki z odmianą antygenu D wykrywa się u ok. 0,2–1% osób rasy kaukaskiej. Podłożem genetycznym mogą być mutacje we fragmentach genu RHD prowadzące do zmian w sekwencji aminokwasów białka RhD w części cytoplazmatycznej lub przezbłonowej (RhD słaby) albo w części zewnątrz błonowej (RhD częściowy). Z wyjątkiem odmian D słaby typu 1, 2 i 3 wszystkie pozostałe odmiany są podatne na wytwarzanie

alloprzeciwciał anty-D w wyniku kontaktu z krwinkami D+ podczas transfuzji lub ciąży.

Cel: Charakterystyka auto- i alloprzeciwciał anty-D i anty-G wykrywanych u osób z odmianami antygenu D.

Materiał i metody: Zbadano 13 próbek krwi pacjentów, u których w regionalnych centrach krwiodawstwa i krwiolecznictwa wykrywano przeciwciała anty-D, mimo że na krwinkach obecny był antygen D. Wykonano serologiczną charakterystykę antygenu D z monoklonalnymi przeciwciałami anty-D różnych klonów, w tym do różnych epitopów antygenu D (ALBAclone Advanced Partial RhD typing Kit). Metodami biologii molekularnej określano odmiany antygenu D (RBC-Ready Gene CDE, RBC-Ready Gene D weak, RBC-Ready Gene D AddOn; Inno-Train (Kronberg/Taunus Germany)). Przeciwciała anty-D w surowicy badano w pośrednim teście antygobulinowym (PTA), enzymatycznym i NaCl techniką mikrokolumnową w żelu (DiaMed) oraz metodą adsorpcji/elucji. Bezpośredni test antyglobulinowy (BTA) wykonywano techniką DiaMed, a eluat z użyciem odczynnika DiaCidel. Jedna z pacjentek była badana dwukrotnie: 2 miesiące po przetoczeniu krwi RhD + i 12 miesięcy po przetoczeniu.

Wyniki: U 6 osób z odmianami D słaby: RHD*01W.2 (3), RHD*01W.1 (2), RHD*01W.14 (1) wykryto w surowicy i na krwinkach autoprzeciwciała o swoistości anty-D (5) lub anty-G (1); u wszystkich z nich BTA był dodatni. Autoprzeciwciała anty-G błędnie określono jako alloprzeciwciała anty-C+D w próbce pobranej 2 miesiące po przetoczeniu. U 7 pacjentów z D częściowym kategorii: RHD*04.06,05 (3), RHD*25 (2), RHD*06.02 (1), 1 RHD*05 (1) wykryto alloprzeciwciała anty-D (BTA ujemny, eluat z krwinek ujemny, autokontrola ujemna).

Wnioski: Przeciwciała anty-D i anty-G wykryte u osób z RHD*01W.1, RHD*01W.2 i RHD*01W.14 wykazywały cechy autoprzeciwciał. Autoprzeciwciała anty-G mogą być błędnie kwalifikowane jako alloprzeciwciała anty-C+D, jeśli badanie jest wykonywane w czasie krótszym niż 3 miesiące od przetoczenia krwinek RhD+.

P6. OCENA FUNKCJONOWANIA PRACOWNI IMMUNOLOGII TRANSFUZJOLOGICZNEJ W POLSCE

dr Bogumiła Michalewska, mgr Beata Wojciechowska, mgr Justyna Bednarz, mgr Monika Pelc-Kłopotowska, 23 Centra Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa – Centra Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Polsce, prof. Ewa Brojer, prof. Magdalena Łętowska

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Pracownie immunologii transfuzjologicznej (PIT) pełnią istotną rolę w procesie bezpiecznego przetaczania składników krwi. Zasady ich funkcjonowania regulują akty prawne (Ust. o publicznej służbie krwi

z 22 sierpnia 1997 r., Rozp. MZ z 12 grudnia 2012 r. w sprawie leczenia krwi w podmiotach leczniczych, Rozp. MZ z 21 stycznia 2009 r. w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych).

Cel: Ocena stanu funkcjonowania pracowni na terenie Polski pod kątem realizowania wymogów prawnych i merytorycznych.

Materiał i metody: Ankietę opracowaną w IHiT rozesłano do 23 Centrów Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (CKiK), które zwrótnie przekazały dane o nadzorowanych pracowniach. Analizy danych dokonano w ramach realizacji zadań IHiT (Art. 25) ustawy o publicznej służbie krwi.

Wyniki: W Polsce funkcjonują 604 PIT – 77% w strukturze szpitala, 23% zarządzanych przez firmy zewnętrzne; w 64% pracowni badania przedtransfuzyjne wykonuje stały personel, w pozostałych pracą jest w systemie rotacyjnym. Liczba badań wykonywanych miesięcznie jest zróżnicowana: 341 (56%) pracowni wykonuje od 100 do 600 badań, 124 (21%) ponad 600, a 138 (23%) poniżej 100 badań. Około ¾ pracowni stosuje techniki manualne, w 27% pracowniach wdrożono automatyzację badań. Ogółem w PIT jest zatrudnionych 2544 diagnostów laboratoryjnych i lekarzy, 2175 techników analityki medycznej. W 48% PIT kierownikiem jest diagnosta lub lekarz ze specjalizacją z laboratoryjnej lub klinicznej transfuzjologii medycznej. W 73% laboratoriów wyniki badań autoryzuje diagnosta z odpowiednimi uprawnieniami, w 23% są one autoryzowane dopiero następnego dnia. W 26 laboratoriach (4%) dokonywana jest zdalna autoryzacja wyników badań przez diagnostę laboratoryjnego z uprawnieniami do autoryzowania wyników w zakresie immunologii transfuzjologicznej. Wymóg uczestnictwa w zewnętrznej ocenie jakości spełnia 93,5% pracowni, 1% pracowni nie bierze udziału, pozostałe 5,5% poddaje się ocenie rzadziej niż 4 razy w roku.

Wnioski: 1. Należy podjąć działania, aby zapewnić autoryzację wyników badań przez diagnostę laboratoryjnego w każdej pracowni przez całą dobę. 2. Konieczne jest zwiększenie liczby laboratoriów z automatyzacją badań. 3. Konieczne jest przedłużenie terminu uzyskania przez kierownika pracowni specjalizacji z laboratoryjnej/klinicznej transfuzjologii medycznej do 2020 r.

P7. SKUTECZNOŚĆ PRZETOCZEŃ KONCENTRATÓW KRWINEK PŁYTKOWYCH NIEZGODNYCH GRUPOWO U CHOREJ Z OPORNOŚCIĄ NA PRZETACZANĄ PŁYTKI KRWI SPOWODOWANĄ ALLOIMMUNIZACJĄ DO ANTYPENÓW Z UKŁADU HLA – OPIS PRZYPADKU

dr n. med. Agnieszka Żebrowska¹,
dr n. med. Barbara Boczkowska-Radziwon¹,
dr n. med. Barbara Choromańska¹,
dr n. med. Eliza Blusiewicz¹,
lek. med. Tomasz Wasiluk²,
lek. med. Natalia Leończuk²,
prof. dr hab. n. med. Janusz Kłoczko²,
prof. dr hab. n. med. Piotr Marek Radziwon^{1,2}

¹Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Białymstoku

²Klinika Hematologii z Pododdziałem Chorób Naczyni, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Wstęp: Chora, 54 lata, z ostrą białaczką szpikową, wielokrotna biorczyni składników krwi została poddana chemioterapii indukującej wg DAC. W trakcie leczenia wystąpiła małopłytkowość. Wielokrotne przetoczenia ubogoleukocytarne i napromieniowanych koncentratów krwinek płytkowych (NUKPP-Af) nie przyniosły oczekiwanego efektu terapeutycznego. Badania konsultacyjne wykazały obecność przeciwciał limfocytotoksycznych anty-HLA klasy I. Ze względu na brak dawców zgodnych w układach ABO i HLA i bezwzględną konieczność przetoczenia KKP podjęto decyzję o przetoczeniu KKP zgodnego w układzie HLA i niezgodnego w układzie ABO.

Cel: Ocena skuteczności przetoczeń NUKPP-Af zawieszonych w płynie wzbogacającym, zgodnych w układzie HLA, ale niezgodnych w układzie ABO, u chorej z alloprzeciwciałami do antygenów z układu HLA.

Materiał i metody: Przeciwciała anty-HLA klasy I w surowicy wykryto metodą ELISA za pomocą testu Pakplus Immucor i czytnika mikropłytek LP 400 Sanofi Diagnostics Pasteur. Genotypowanie w układzie HLA wykonano metodą SSO w technologii Luminex z użyciem odczynników Lifecodes HLA SSO Typing Kit. DNA pozyskano z krwi pełnej za pomocą ekstraktora Chemagic Prepito D i odczynnika Prepito DNA Blood D250 Kit. Dobór NUKPP-Af od dawców zgodnych z pacjentką w układzie HLA przeprowadzano z użyciem testu limfocytotoksycznego.

Wyniki: Liczba płytek krwi u chorej od 14. doby hospitalizacji, pomimo kolejnych przetoczeń 8 j. NUKPP-Af grupy O RhD-dodatni (jednoimiennej z grupą krwi pacjentki), nie wzrastała i wynosiła $1-3 \times 10^3/\mu\text{l}$. Po wykonaniu genotypowania HLA przetoczono w dobach: 27. – 2 j., 30. – 1 j., 32. – 1 j. NUKPP-Af grupy A RhD-dodatni od dawców zgodnych z pacjentką w układzie HLA, i uzyskano wzrost liczby PLT do $27 \times 10^3/\mu\text{l}$.

Wnioski: W przypadku braku KKP zgodnych w układzie ABO przetwarzanie KKP zgodnych w układzie HLA z biorcą i niezgodnych w układzie ABO jest skuteczną alternatywą leczenia małopłytkowości u chorych, u których wystąpiła oporność na przetwarzane płytki krwi.

Introduction: Patient, 54 years old, female, with acute myeloid leukemia, multiple recipient of blood components, has been the subject of induced chemotherapy according to DAC. During the treatment thrombocytopenia occurred. Multiple transfusions of leukoreduced and irradiated platelets concentrates (irradiated LD APCs), did not bring expected therapeutic result. Consultation tests revealed the presence of lymphocytotoxic antibodies anti-HLA class I. Due to lack of donors compatible in ABO and HLA systems as well as absolute necessity of platelets concentrate transfusion, the decision of transfusion of HLA compatible and ABO incompatible platelet concentrate has been made.

Aim: Evaluation of the efficiency of irradiated LD APCs transfusions suspended in enrichment solution compatible in HLA but incompatible in ABO in patient with all antibodies to HLA antigens.

Material and methods: Antibodies anti-HLA class I in serum have been detected with ELISA method using Pakplus Immucor test and microplates reader LP 400 Sanofi Diagnostics Pasteur. Genotyping in HLA system has been performed in SSO method through Luminex using reagents Lifecodes HLA SSO Typing Kit. DNA has been obtained from full blood using extractor Chemagic Prepito D and reagent Prepito DNA Blood D250 Kit. Selection of irradiated LD APCs from donors compatible with the patient in HLA system has been performed using lymphocytotoxic test.

Results: Number of blood platelets in patient since 14th day of hospitalization despite further transfusions of 8 units irradiated LD APCs, O, RhD positive (compatible with blood type of the patient) did not increase and amounted to $3 \times 10^3/\mu\text{l}$. After genotyping of HLA in further days HLA has been transfused respectively: 27 – 2 units, 30 – 1 units, 32 – 1 units irradiated LD APCs, A RhD positive from donors compatible with the patient in HLA and the increase of PLT to $27 \times 10^3/\mu\text{l}$ has been obtained.

Conclusions: In case of the lack of platelets concentrate compatible in ABO, transfusion of platelets concentrate compatible in HLA with receiver and incompatible in ABO is an efficient alternative for thrombocytopenia treatment in patients resistant to transfused platelets.

P8. UKŁAD GRUPOWY P1PK: JAK JEDNONUKLEOTYDOWE POLIMORFIZMY W GENIE A4GALT WPŁYWAJĄ NA LICZBĘ ANTYPENÓW

dr Radosław Kaczmarek¹,
mgr Katarzyna Szymczak-Kulus¹,
mgr Anna Bereźnicka¹, Krzysztof Mikołajczyk¹,
dr Edyta Majorczyk², prof. Marcin Czerwiński^{1,2},
dr Bogumiła Michalewska³, prof. dr hab. Ewa Brojer⁴

¹Laboratorium Glikobiologii, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław

²Wydział Wychowania Fizycznego i Fizjoterapii, Politechnika Opolska, Opole

³Pracownia Immunologii Krwinek Czerwonych, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁴Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Układ grupowy krwi P1PK obejmuje trzy cukrowe antygeny: Pk i P1 z terminalną sekwencją Gal α 1,-4Gal i NOR z terminalną sekwencją Gal α 1,4GalNAc. Antygeny Pk i P1 występują na erytrocytach, a także na komórkach nabłonka i śródbłonka, z tym że antygen P1 znajdowany jest tylko u części osób. W zależności od obecności antygeny P1 mamy do czynienia z grupą krwi P1 (antygen P1 jest obecny) lub P2 (brak antygeny P1). Antygeny Pk i P1 są syntezowane przez syntazę P1/Pk (α 1,4-galaktozylotransferaza), kodowaną przez gen A4GALT. Antygen NOR powstaje w wyniku mutacji c.631C>G w genie A4GALT, która powoduje zastąpienie reszty glutaminy w pozycji 211 łańcucha polipeptydowego syntazy P1/Pk resztą kwasu glutaminowego (podstawienie p.Gln211Glu) [Kaczmarek R. et al., 2014]. Enzym z tym podstawieniem syntezuje antygeny Pk, P1 i NOR. Molekularne podstawy różnicowania P1/P2 pozostają nie do końca wyjaśnione, ale wykazano, że rs8138197 [Thuresson B. et al., 2011] i rs5753148 [Lai Y.J. et al., 2014] znalezione poniżej eksonu 1 są związane ze różnicowaniem fenotypowym P1/P2.

Cel: Określenie związku między opisanymi polimorfizmami i liczbą antygenów P1PK na powierzchni erytrocytów osób o różnych genotypach.

Materiał i metody: DNA i RNA otrzymano z pełnej krwi. Poziom transkryptu A4GALT określono za pomocą ilościowej PCR z użyciem β -aktyny jako wewnętrznej kontroli. Liczbę cząsteczek przeciwciał związanych do komórek określano za pomocą zestawu Quantum i następujących monoklonalnych przeciwciał: ludzkie anty-P1 (Immucor, klon P3NIL100; rozpoznaje P1), mysie anty-P1 (CE Immundiagnostika, klon 650; rozpoznaje Pk i P1), mysie anty-NOR (klon nor118).

Wyniki i wnioski: rs5753148 [Lai Y.J. et al., 2014] wykazuje największą korelację z poziomem transkryptu A4GALT i liczbą cząsteczek przeciwciał anty-P1/Pk. Wiązanie tych przeciwciał do erytrocytów NOR-dodatnich jest średnio ok. 30% niższe w porównaniu z osobami NOR-ujemnymi. Przeciwciała anty-P1/Pk wiążą się tyl-

ko do erytrocytów osób o fenotypie P1P1 i P1P2, przy czym wiązanie do erytrocytów P1P1 było statystycznie istotnie wyższe niż do P2P2. Analiza wykresów rozproszenia liczby związanych przeciwciał w zależności od genotypu wykazała skośny rozkład tej cechy w obrębie każdej grupy genotypowej, co sugeruje, że określenie fenotypu P1/P2 na podstawie jednonukleotydowych polimorfizmów nie zawsze jest jednoznaczne. Niższe wiązanie przeciwciała anty-P1/Pk sugeruje, że syntaza P1/Pk z podstawieniem p.Gln211Glu ma niższą aktywność niż konsensowy enzym.

Introduction: P1PK blood group system consists of 3 glycosphingolipid antigens: Pk, P1 and NOR. Presence or absence of P1 antigen determines P1 and P2 phenotype, respectively. Despite recent progress, the molecular background of P1/P2 blood group polymorphism still remains elusive. All P1PK antigens can be synthesized by α 1,4-galactosyltransferase, which is encoded by A4GALT gene; it was shown that rs8138197 (Thureson, Blood, 2011) and rs2143918 and rs5753148 (Lai, Transfusion, 2014) found downstream of Exon 1 are associated with P1/P2 phenotype. In addition, c.631C>G missense mutation causes broadening of the enzyme's specificity, which in addition to Pk and P1 becomes able to synthesize NOR antigen.

Aim: To evaluate the relationship between described SNPs and the number of P1PK antigens on RBCs, we determined SNPs (rs8138197, rs2143918, rs5753148) in 85 individuals of known phenotypes (P1, P2, P1NOR), evaluated A4GALT transcript level and anti-Pk/P1/NOR antibody binding capacity.

Material and methods: DNA and RNA was isolated from whole blood. Real-Time PCR of A4GALT was performed using actin as the endogenous control. Anti-Pk/P1 antibody binding capacity was evaluated by flow cytometry using Qifikit quantitative assay. Antibodies: mouse monoclonal anti-P1 (CE Immundiagnostika, clone 650; recognizes Pk and P1), human monoclonal anti-P1 (Immucor, clone P3NIL100; recognizes P1 only), mouse monoclonal anti-NOR (clone nor118; recognizes NOR1 and NOR2). Data are presented in the form of scatter plots.

Results and conclusions: We found that rs5753148 (Lai, Transfusion, 2014) reveals the strongest association with anti-Pk/P1 antibody binding capacity and A4GALT transcript level. The number of Pk/P1 antigens in NOR-positive individuals was significantly lower than in NOR-negative individuals. While RBCs of P2P2 genotype bound neither mouse anti-P1 monoclonal antibody nor human anti-P1, RBCs of P1P1 genotype bound statistically more antibodies of each specificity than P1P2 RBCs. However, scatter plots of genotype versus antibody binding capacity revealed a skewed distribution within each genotype group with a substantial overlap between P1P1 and P1P2, suggesting that P1/P2 phenotype cannot be universally predicted based on the known SNPs and that there are confound-

ing factors that affect the phenotype, which are yet to be discovered. In addition, presence of NOR-causing mutation in α 1,4-galactosyltransferase results in 29% decrease of P1 synthase activity.

P9. OCENA REALIZACJI ZALECEŃ POKONTROLNYCH W KONTROLOWANYCH LABORATORIACH IMMUNOLOGII TRANSFUZJOLOGICZNEJ

lek. Agnieszka Wiklinska

Śląskie Centrum Chorób Serca

Wstęp: Badania z zakresu immunologii transfuzjologicznej są wykonywane przez laboratoria, nad którymi nadzór specjalistyczny sprawują regionalne centra krwiodawstwa.

Cel: Celem pracy jest analiza realizacji zaleceń pokontrolnych po kontrolach przeprowadzanych przez regionalne centrum krwiodawstwa i krwiolecznictwa w ramach nadzoru merytorycznego w laboratoriach wykonujących badania z zakresu immunologii transfuzjologicznej.

Materiał i metody: Na terenie działania centrum funkcjonuje 11 szpitali, w 6 zlokalizowane są laboratoria serologiczne, w 3 prowadzony jest „outsourcing” usług laboratoryjnych, 4 laboratoria działają poza podmiotami leczniczymi prowadzącymi całodobowe świadczenia zdrowotne. Analizie poddano kontrole przeprowadzane od 2010 r. W laboratoriach przeprowadzano kontrolę corocznie do 2012 r., potem co 2 lata. Protokół pokontrolny zawiera informacje dotyczące rodzaju i ilości wykonywanych badań, nadzoru specjalistycznego, zatrudnionego personelu, systemu pracy, metody wykonywania badań, systemu zapewnienia jakości, zapisów. Ponadto opisywane są stwierdzane nieprawidłowości wraz z zaleceniami pokontrolnymi. Dla potrzeb pracy podzielono odchylenia na duże: rotacja lub zbyt mało personelu, brak osób odpowiedzialnych za prawidłowe funkcjonowanie PIT, niewłaściwe warunki przechowywania odczynników, niewłaściwe warunki przeprowadzania badań, brak walidacji nowej serii odczynników, oraz małe – związane z nieprawidłowo prowadzoną dokumentacją. We wszystkich 7 laboratoriach szpitalnych każdorazowo zalecano nierotowanie personelu, w żadnych z nich tego zalecenia nie wykonano, ze względu na brak nadzoru specjalistycznego i małą ilość wykonywanych badań zalecono zamknięcie 1 laboratorium szpitalnego, zalecenie wykonano. W 3 laboratoriach outsourcowanych zalecano objęcie nadzoru specjalistycznego przez diagnostę – zalecenia nie były realizowane. Tylko w jednym kontrolowanym laboratorium nadzór sprawuje specjalista laboratoryjnej transfuzjologii medycznej, jedna osoba jest w trakcie specjalizacji. W laboratoriach pozaszpitalnych bra-

kowało lub zbyt rzadko przeprowadzano zewnętrzną ocenę jakości badań.

Wyniki i wnioski: Zalecenia pokontrolne nie są wykonywane przez laboratoria, które działają niezgodnie z prawem. Regionalnym centrom krwiodawstwa i krwiolecznictwa brakuje skutecznego narzędzia egzekwowania zaleceń.

P10. WYKRYWALNOŚĆ PRZECIWCIAŁ ODPORNOŚCIOWYCH W KONTROLOWANYCH LABORATORIACH IMMUNOLOGII TRANSFUZJOLOGICZNEJ

lek. Agnieszka Wiklinska

Śląskie Centrum Chorób Serca

Wstęp: Błędy związane z oznaczaniem grup krwi wiążą się z ryzykiem wystąpienia poważnych zdarzeń niepożądanych w trakcie leczenia składnikami krwi. Badania z zakresu immunologii transfuzjologicznej wykonywane są przez specjalistyczne laboratoria, których działalność jest regulowana Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 11 grudnia 2012 r. w sprawie leczenia krwią w podmiotach leczniczych wykonujących działalność leczniczą w rodzaju stacjonarne i całodobowe świadczenia zdrowotne, w których przebywają pacjenci ze wskazaniami do leczenia krwią i jej składnikami, zgodnie z nim nadzór specjalistyczny sprawują regionalne centra krwiodawstwa.

Cel: Celem pracy jest analiza wykrywalności przeciwciał odpornościowych w laboratoriach immunologii transfuzjologicznej działających w obszarze regionalnego centrum krwiodawstwa i krwiolecznictwa.

Materiał i metody: Na terenie działania centrum funkcjonuje 11 szpitali, w 6 zlokalizowane są laboratoria serologiczne, w 3 prowadzony jest „outsourcing” usług laboratoryjnych, 4 laboratoria działają poza podmiotami leczniczymi prowadzącymi całodobowe świadczenia zdrowotne. W analizowanych laboratoriach wykonano 7054 próby zgodności, w tym 163 dodatnich wymagających konsultacji w RCKIK, z czego 158 badań zostało wysłanych do identyfikacji, spośród których potwierdzonych zostało 151. Wykonano 22 607 badań grup krwi, w tym 185 dodatnich wymagających konsultacji w RCKIK, z czego 135 badań zostało wysłanych do identyfikacji, spośród których potwierdzonych zostało 118. Przeprowadzono 3955 badań przeglądowych w kierunku wykrywania alloprzeciwciał odpornościowych w ciąży, w tym 50 dodatnich wymagających konsultacji w RCKIK, z czego 35 badań zostało wysłanych do identyfikacji, spośród których potwierdzonych zostało 33.

Wyniki: W analizowanym materiale stwierdzono 2,31 dodatnich reakcji wymagających konsultacji w RCKIK w przypadku prób zgodności, odpowiednio 0,81 w przypadku badań grup krwi, 1,26 w badaniu

przeglądowym w kierunku alloprzeciwciał odpornościowych u kobiet w ciąży.

Wnioski: W badanym materiale wykrywalność przeciwciał jest stosunkowo wysoka, dla porównania częstość wykrywania przeciwciał w ciąży wynosi ok. 1/1000–2000 kobiet. W dalszym ciągu nie wszystkie wyniki pozytywne wysyłane są do regionalnego centrum w celu identyfikacji. Jest to czynnik sprzyjający wystąpieniu niepożądanych zdarzeń niepożądanych, jak również niezgodne z wcześniej wspomnianym rozporządzeniem.

P11. PORÓWNANIE WYKRYWALNOŚCI PRZECIWCIAŁ ODPORNOŚCIOWYCH W LABORATORIACH SZPITALNYCH I POZASZPITALNYCH

lek. Agnieszka Wiklinska

Śląskie Centrum Chorób Serca

Wstęp: Niewykrycie alloprzeciwciał do antygenów krwinek czerwonych wiąże się z ryzykiem wystąpienia poważnych zdarzeń niepożądanych w trakcie leczenia składnikami krwi oraz choroby hemolitycznej płodu i noworodka.

Cel: Celem pracy jest porównanie wykrywalności przeciwciał odpornościowych w laboratoriach immunologii transfuzjologicznej działających w obrębie szpitali z wykrywalnością przeciwciał w laboratoriach działających poza szpitalami w obszarze regionalnego centrum krwiodawstwa i krwiolecznictwa.

Materiał i metody: Na terenie działania centrum funkcjonuje 11 szpitali, w 6 zlokalizowane są laboratoria serologiczne, w 3 prowadzony jest „outsourcing” usług laboratoryjnych, 4 laboratoria działają poza podmiotami leczniczymi prowadzącymi całodobowe świadczenia zdrowotne. W analizowanym materiale wykonano 7054 próby zgodności, z czego wszystkie były wykonane w laboratoriach szpitalnych, odsetek reakcji dodatnich wyniósł 2,31%. Jeśli chodzi o badania grup krwi, 2195 wykonano w laboratoriach pozaszpitalnych, gdzie wykrywalność alloprzeciwciał wyniosła 0,091%, podczas gdy przeprowadzono 20 412 badań grup krwi w laboratoriach szpitalnych z 0,81% próbek wymagających badań konsultacyjnych. Jeżeli chodzi o badania przeglądowe w kierunku alloprzeciwciał odpornościowych u kobiet w ciąży, wykonano 947 badań w laboratoriach pozaszpitalnych z 0,844% reakcji dodatnich oraz odpowiednio 3008 badania w laboratoriach szpitalnych, gdzie procent dodatnich wyników wyniósł 1,26. Laboratoria pozaszpitalne nie wykonywały bezpośredniego testu antyglobulinowego u noworodków.

Wyniki: W analizowanym materiale stwierdzono istotną statystycznie różnicę w wykrywalności alloprzeciwciał odpornościowych w laboratoriach szpital-

nych i pozaszpitalnych wykonujących badania z zakresu immunologii transfuzjologicznej. Część badań nie jest w ogóle wykonywana przez te drugie.

Wnioski: Niski odsetek wykrytych przeciwciał przez laboratoria pozaszpitalne w porównaniu ze szpitalnymi może być efektem wyników fałszywie ujemnych. Wyniki fałszywie ujemne mogą skutkować poważnymi reakcjami poprzetoczeniowymi, a w przypadku badań u kobiet w ciąży wystąpieniem nierozpoznanej choroby hemolitycznej płodu i noworodka.

P12. THE POLISH-NORWEGIAN HPA-1A NEGATIVE BIOBANK FROM PREGNANT WOMEN

dr n. biol. Katarzyna Guz¹,
dr n. biol. Agnieszka Orzińska¹,
Małgorzata Uhrynowska¹, Sylwia Purchla-Szepiōła¹,
Patrycja Łopacz¹, Gerd Berge², Maria Therese Ahlen²,
Anne Husebekk², Ewa Brojer¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²University of Tromsø The Arctic University of Norway, Tromsø, Norway

Introduction: HPA-1a platelet antigen is responsible for the majority of fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT). The organization of a biobank for the collection of biological samples and clinical data from HPA-1a neg pregnant women and their relatives is an important starting point for the identification of the complex mechanism and prediction markers of the disease.

Aim: To organize a small-scale semi-automatic biobank of HPA-1a neg pregnant women recruited from the whole Poland, their partners and neonates done as part of the HPA-1a screening program PREVFNIT.

Material and methods: HPA-1a neg pregnant women who signed the informed consent were registered into the clinical database (Optimed) and received a unique case number. From each woman, her partner and neonate (cord blood) samples of whole blood and DNA were collected. Plasma samples from each woman were collected when the woman entered the study and in the follow-up at 16-20, 28, 32, 38-40 weeks of pregnancy and 6 weeks after delivery. These samples are in parallel collected in Polish and Norwegian biobanks. The Norwegian biobank additionally contains cryopreserved PBMC samples. The samples were stored in 2D-barcode cryopreservation tubes with a manually pasted label. Each visit, each kind of material and each relative had its own code added to the unique case number and printed as a barcode on the label. We developed a procedure that combined the computer system for archiving (ARCA) samples with these special labels. Before putting tubes in a barcoded rack, their

positions were scanned and recorded in ARCA system using the 2D and the label barcodes. Full racks were verified electronically by 2D scanning. All racks were organized into boxes and kept in -80°C. The Norwegian part of the biobank is successively transported to Norway.

Results: After 3 years the PREVFNIT Polish-Norwegian biobank has collected 558 whole blood and DNA samples from HPA-1a neg pregnant women, 545 from their partners, 373 from their neonates and 2045 plasma samples from the immunized or non-immunized HPA-1a negative mothers. The Norwegian PBMC biobank contains 1002 samples from all HPA-1a neg, HLA-DRB3*01:01 pos women and from about 200 HLA-DRB3*01:01 neg women.

Conclusions: The PREVFNIT biobank has been constituted as the first collection of time-course samples from HPA-1a neg Polish population being designed for further researches of FNAIT disease.

P13. ZAPOBIEGANIE ALLOIMMUNOLOGICZNEJ MAŁOPŁYTKOWOŚCI PŁODU/ NOWORODKA (AIMPN) U KOBIET HPA-1A-UJEMNYCH ZIDENTYFIKOWANYCH W BADANIACH PRZEGLĄDOWYCH

dr n. biol. Katarzyna Guz¹, Małgorzata Uhrynowska¹,
Marzena Dębska², dr n. biol. Agnieszka Orzińska¹,
Agnieszka Gierszon¹, Patrycja Łopacz¹,
Sylwia Purchla-Szepiōła¹, Ewelina Sokół¹,
Beata Szczepaniak¹, Jadwiga Szczepaniak¹,
Krystyna Maślanka¹, Anne Husebekk¹,
Romuald Dębski², Ewa Brojer¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

Wstęp: Kobiety HPA-1a-ujemne stanowią grupę ryzyka alloimmunologicznej małopłytkowości płodów i noworodków (AIMPN). Około 10% z nich wytwarza przeciwciała (p-ła) anty-HPA-1a, które u 30% płodów/dzieci prowadzą do groźnej dla życia małopłytkowości. W programie PREVFNIT (2014–2016) identyfikowano kobiety HPA-1a-ujemne i obejmowano je diagnostyką i ewentualnym leczeniem.

Cel: Celem analizy jest przedstawienie wyników badań przeciwciał i oceny klinicznej noworodków urodzonych przez te kobiety. Omówiono też przypadki dzieci z AIMPN urodzonych przez kobiety, które nie uczestniczyły w programie, a zostały zdiagnozowane w czasie jego trwania.

Materiał i metody: 598 kobiet HPA-1a-ujemnych zidentyfikowanych w badaniach przeglądowych, 24 259 kobiet w 8.–40. tygodniu ciąży (patrz Guz i wsp.) oraz 18 przypadków z podejrzeniem AIMPN diagnozowanych po porodzie. Obecność i aktywność przeciwciał

anty-HPA-1a badano testem MAIPA (patrz Gierszon i wsp.) oraz testem PAKLx w przypadkach, gdy u dziecka stwierdzono małopłytkowość, a test MAIPA był ujemny. Kobiety z przeciwciałami kierowano do referencyjnego ośrodka ginekologiczno-położniczego. Stan klinicznego oceniono u 438 noworodków.

Wyniki: Przeciwciała anty-HPA-1a wykryto u 63/598 (11%) kobiet z PREVFNAIT i u 18 diagnozowanych po porodzie. U 40/63 kobiet z PREVFNAIT przeciwciała wykryto w czasie ciąży: 19 leczono prenatalnie (IVIg/steroidy): u 11 noworodków poziom płytek krwi (PLT) był w normie, u 6 – 50–150 x 10⁹/l, u 1 – 42 x 10⁹/l, a u 1 urodzonego w 26. tygodniu ciąży wystąpił wylew do ośrodkowego układu nerwowego (OUN). U 21/63 leczenia nie stosowano (niski poziom przeciwciał i/lub przeciwciała wykryte dopiero przed/po porodzie): łagodna małopłytkowość wystąpiła u 7 dzieci, a głęboka u 2. U pozostałych matek 397 dzieci wyniki MAIPA były ujemne; w tej grupie stwierdzono łagodną małopłytkowość u 22 dzieci, a wylew do OUN/głęboką u 2. Retrospektywna diagnostyka ujawniła przeciwciała anty-HPA-5b u 2 kobiet z łagodną, a przeciwciała anty-HPA-1a wykrywane w czasie ciąży tylko testem PakLx u 1 z głęboką małopłytkowością. W przypadkach badanych tylko po porodzie u 80% dzieci objawy AIMPN były ciężkie.

Wnioski: 1. Częstość przeciwciał anty-HPA-1a szacuje się na 26/10 000 kobiet. 2. Leczenie kobiet, u których przeciwciała wykryto w ciąży, było w pełni skuteczne w 17/19 przypadków; dwoje dzieci urodziło się z głęboką małopłytkowością, ale obecnie są w dobrym stanie. 3. W trakcie trwania programu diagnozowano AIMPN u kobiet nieobjętych badaniami przeglądowymi. 4. Należy rozważyć badania przeciwciał u kobiet HPA-1a-ujemnych dwoma testami (MAIPA i PAKLx), by wykryć przeciwciała niewykrywalne testem MAIPA.

Cel: Niniejsze opracowanie ma na celu uzupełnienie tej luki poprzez zbadanie występowania codziennych dolegliwości fizycznych i ich predyktorów (demograficznych i klinicznych) u pacjentów po HCT.

Materiał i metody: Obserwacje prowadzono u 188 chorych (56,9% mężczyzn; w wieku 47,6 ± 13,4 roku), którzy przez kolejnych 28 dni po wypisaniu z oddziału transplantacyjnego szacowali liczbę doświadczanych objawów fizycznych. Analizy statystyczne wykonano przy użyciu modelowania wielopoziomowego.

Wyniki: Wyniki wskazują, że początkowe nasilenie objawów somatycznych (bezpośrednio po wypisie ze szpitala) systematycznie zmniejszało się w ciągu 28 dni obserwacji. Objawy depresyjne ($\beta = 0,06$, $p < 0,01$) oraz toksyczność leczenia ($\beta = 0,09$, $p < 0,01$) wiązały się z początkowym nasileniem objawów somatycznych. Pacjenci z objawami depresyjnymi przed HCT (skala CES-D) oraz większą toksycznością w skali WHO doświadczali większej liczby objawów somatycznych bezpośrednio po wypisie ze szpitala. Rodzaj przeszczepienia, rozpoznanie oraz leczenie kondycjonujące różnicowały dynamikę objawów somatycznych w czasie. Pacjenci z rozpoznaną białaczką i innymi nowotworami mieloidalnymi ($\beta = 0,05$, $p < 0,01$), pacjenci po allogenicznym przeszczepieniu komórek krwiotwórczych ($\beta = -0,06$, $p < 0,01$) i poddawani niemieloablacyjnemu kondycjonowaniu ($\beta = -0,09$, $p < 0,01$) wykazywali niższy spadek objawów somatycznych w czasie. Pacjenci ze szpiczakiem plazmacytowym prezentowali z kolei największą poprawę ($\beta = -0,03$, $p < 0,05$).

Wnioski: Wyniki sugerują heterogenną i raczej pozytywną odpowiedź na leczenie z użyciem HSCT. Czynniki związane z leczeniem okazały się istotnym predyktorem intensywności zmian w codziennym fizycznym funkcjonowaniu pacjentów po przeszczepieniu.

P14. DEMOGRAFICZNE I KLINICZNE PREDYKTORY OBJAWÓW SOMATYCZNYCH U CHORYCH PO PRZESZCZEPNIENIU KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH

**lek. Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka¹,
dr Aleksandra Kroemeke², dr Zuzanna Kwissa-Gajewska²**

¹Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział Gliwice

²SWPS Uniwersytet Humanistycznospołeczny, Wydział Psychologii, Warszawa

Wstęp: Obserwacje pokazują, że objawy somatyczne są powszechne u pacjentów po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych (HCT) i mogą być związane z różnymi czynnikami. Pomimo tego istnieje niewiele badań dotyczących występowania tych objawów w życiu codziennym pacjentów po HCT.

P15. MASYWNE KRWAWIENIE PŁODOWO-MATCZYNE PRZYCYNĄ ZGONU WEWNĄTRZMACICZNEGO PŁODU I CIĘŻKIEJ NIEDOKRWISTOŚCI NOWORODKA

**dr n. med. Aleksandra Teodorczyk-Winnicka¹,
mgr Ewa Embinger-Paprota¹, mgr Anna Tatarczak¹,
lek. med. Hanna Radwan-Wieczorek¹,
lek. med. Katarzyna Błaszkiwicz²,
prof. dr hab. n. med. Bożena Leszczyńska-Gorzelak²**

¹Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Lublinie

²Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 4 w Lublinie

Wstęp: Przeciek płodowo-matczynej (FMH) jest poważnym powikłaniem ciąży i jedną z przyczyn niedokrwistości stwierdzanej u noworodka. Masywne FMH może stanowić zagrożenie życia płodu/novorodka i być

przyczyną zgonu wewnątrzmacicznego płodu. Technika cytometrii przepływowej umożliwia szybką diagnostykę FMH, ocenę ryzyka zagrożenia życia dziecka i w konsekwencji wdrożenie odpowiedniego leczenia.

Cel: Celem pracy była ocena częstości występowania masywnego FMH oraz analiza krwawienia płodowo-matycznego jako przyczyny niedokrwistości noworodka i zgonu wewnątrzmacicznego płodu.

Materiał i metody: Analizie poddano wyniki badań 260 kobiet diagnozowanych w kierunku FMH w szpitalach województwa lubelskiego, w okresie od sierpnia 2009 r. do maja 2017 r. Badanie stężenia krwinek płodowych w krążeniu matki wykonano techniką cytometrii przepływowej przy użyciu zestawu CE IVD Fetal Cell Count Kit. Za dodatni uznawano wynik, w którym % krwinek płodowych przekraczał 0,04%, co odpowiada 2 ml krwi pełnej płodu.

Wyniki: Przeciek płodowo-matyczny (FMH) stwierdzono u 51/260 kobiet (19,6%). Wielkość FMH była zróżnicowana, w 13/51 przypadków (25,5%) nie przekraczała objętości 7,5 ml krwi pełnej płodu. FMH o objętości od 7,5 ml do 50 ml krwi pełnej płodu stwierdzono u 14/51 kobiet (27,4%), średnia objętość FMH w tej grupie wynosiła 17,8 ml. Za masywne krwawienie płodowo-matyczne uznano FMH o objętości powyżej 50 ml krwi pełnej płodu. W analizowanej grupie masywne FMH stanowiły 47% przypadków (24/51). W grupie tej przeciek płodowo-matyczny był przyczyną zgonu 8/24 dzieci. U 16/24 noworodków stwierdzono ciężką, zagrażającą życiu niedokrwistość. Wszystkie przypadki masywnego FMH stwierdzono w III trymestrze ciąży (powyżej 33 hbd). Dodatkowo przeanalizowano częstość występowania FMH w grupie kobiet, u których doszło do zgonu wewnątrzmacicznego płodu lub urodzenia dziecka z niedokrwistością. FMH stwierdzono w 14/108 przypadkach zgonu płodu (13%) i w 21/60 przypadkach anemizacji dziecka (35%).

Wnioski: Przeciek płodowo-matyczny jest istotną przyczyną niedokrwistości noworodków i wewnątrzmacicznego obumarcia płodu. Technika cytometrii przepływowej pozwala na wczesne wykrycie zagrażającego życiu dziecka krwawienia płodowo-matycznego.

logicznej, do fenotypowania komórek chłoniakowych i białaczkowych, komórek krwiotwórczych w materiale przeszczepowym, granulocytów we wrodzonej i nabytej neutropenii oraz w nocnej napadowej hemoglobinurii (NNH). W NNH oraz w sferocytzie wrodzonej bada się też rutynowo zmiany w białkach błonowych erytrocytów (CD59 i CD55, prążek 3 – test EMA).

Cel: Popularyzowanie zastosowań FC w immunologii transfuzjologicznej.

Materiał i metody: Ocena przecieku płodowo-matycznego (*feto-maternal haemorrhage* – FMH): Stosując przeciwciała anty-D, -HbF (hemoglobina płodowa), -CA (*carbonic anhydrase*), można w próbce krwi matki wykryć krwinki płodowe RhD+, HbF+, CA–, gdy matka jest RhD– oraz HbF– i CA+. Badania umożliwiają dobór odpowiedniej dawki Ig anty-D w profilaktyce konfliktu RhD, pozwalają wykryć przyczynę niedokrwistości płodu, gdy objętość FMH jest duża, lub szukać innych przyczyn, gdy nie występuje. Erytrofagocytoza: Jeżeli ze względu na swoistość przeciwciał odpowiednie krwinki do transfuzji są niedostępne, to opłaca się dostępne krwinki tymi przeciwciałami i ocenia się fagocytozę przez monocyty biorcy. Zazwyczaj stosuje się test mikroskopowy, trudny do przeprowadzenia i subiektywny. Znakowanie CD14 monocytów i CD235a erytrocytów pozwala uwidocznić na cytogramach krwinki, które oddziałują ze sobą, i ocenić fagocytozę łatwo i obiektywnie. Ekspresja antygenów krwinek czerwonych: Jej miarą jest intensywność fluorescencji odpowiadająca liczbie determinantów antygenowych, z którymi reagują przeciwciała. Można ocenić antygeny grupowe lub cząstki różnicowania CD. Można śledzić zmiany wybranych CD, istotnych dla podstawowych funkcji krwinek czerwonych oraz ich żywotności, np. w trakcie przechowywania KKCz. Mikrocząstki: Badając zmiany erytrocytów podczas przechowywania, można wykrywać uwalniane z nich mikrocząstki o określonej wielkości oraz z charakterystycznym markerem CD235a. Oporność osmotyczna: Ta cecha oraz jej pomiar nie należą do reakcji immunologicznych, jednak w immunohematologii większość badań ma na celu szukanie przyczyn hemolizy. Możliwość nowoczesnego jej pomiaru za pomocą FC wspomaga różnicowanie anemii hemolitycznych immunologicznych od nieimmunologicznych i wrodzonych.

Wyniki i wnioski: Cytometrię przepływową powinno się stosować w badaniach immunohematologicznych krwinek czerwonych w szerszym zakresie niż dotychczas.

P16. ZASTOSOWANIE CYTOMETRII PRZEPŁYWOWEJ W BADANIACH IMMUNOHEMATOLOGICZNYCH KRWINEK CZERWONYCH

dr hab. Jadwiga Fabijańska-Mitek, dr Anna Stachurska

Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego
w Warszawie

Wstęp: Cytometria przepływowa (*flow cytometry* – FC) jest techniką stosowaną w badaniach naukowych i w diagnostyce laboratoryjnej, szczególnie hemato-

CHŁONIAKI NIEZIARNICZE INDOLENTNE, PRZEWLEKŁE BIAŁACZKI LIMFOCYTOWE

PRZEWODNICZĄCY:
E. LECH-MARAŃDA (WARSZAWA),
D. WOŁOWIEC (WROCŁAW)

Doniesienia ustne

BEZPIECZEŃSTWO I EFEKTYWNOŚĆ KLINICZNA NOWYCH INHIBITORÓW SZŁAKU SYGNAŁOWEGO RECEPTORÓW LIMFOCYTÓW B W LECZENIU NAWROTOWEJ I OPORNEJ PRZEWLEKŁEJ BIAŁACZKI LIMFOCYTOWEJ: PRZEGLĄD SYSTEMATYCZNY I METAANALIZA

Anna Puła¹, Konrad Stawiski², Marcin Braun^{3,4},
Elżbieta Iskierka-Jażdżewska¹, Tadeusz Robak¹

¹Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź

²Zakład Biostatystyki i Medycyny Translacyjnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

³Zakład Patologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź

⁴Studium Medycyny Molekularnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Przewlekła białaczka limfocytowa (CLL) pozostaje jedną z najczęstszych nieuleczalnych chorób limfoproliferacyjnych. Pomimo stosowania nowych metod leczenia u pacjentów mogą występować nawroty, a także może rozwinąć się oporność na leczenie pierwszego rzutu. Jak wykazały najnowsze badania inhibitory szlaku sygnałowego receptorów limfocytów B (inhBCR; ibrutinib i idelalisib) mogłyby pełnić znaczącą rolę w leczeniu nawrotowej i opornej CLL (rrCLL).

Cel: Celem pracy było podsumowanie i określenie profilu bezpieczeństwa, a także efektywności klinicznej ibrutinibu i idelalisibu w leczeniu rrCLL na podstawie przeprowadzonych do tej pory randomizowanych badań klinicznych.

Materiał i metody: Po przeglądzie systematycznym baz MEDLINE, EMBASE, CENTRAL, ClinicalTrials.gov oraz ISRCTN wykonano metaanalizę randomizowanych badań klinicznych (RCT), oceniając różnice czasu przeżycia (OS), czasu wolnego od progresji (PFS), odpowiedzi na leczenie i częstości objawów niepożądanych (AE) pomiędzy zastosowaniem inhBCR i leków opartych o inny mechanizm działania.

Wyniki: Do metaanalizy zakwalifikowano 5 RCT (1866 pacjentów), z których 2 dotyczyły zastosowania ibrutinibu (NCT01578707, NCT01611090) i 3 idelalisibu (NCT01539512, NCT01659021, NCT01569295). Pacjenci leczeni inhBCR wykazywali istotnie dłuższy PFS (HR 0,24; 95% CI: 0,19–0,30) oraz OS (HR: 0,58; 95% CI: 0,46–0,73). Skuteczność inhBCR była podobna niezależ-

nie od obecności delecji 17p ($p = 0,18$), mutacji w genie IGHV ($p = 0,34$), wieku powyżej 65 lat ($p = 0,84$), płci ($p = 0,84$) czy rasy ($p = 0,67$). Zastosowanie inhBCR było także związane z wielokrotnie wyższym prawdopodobieństwem odpowiedzi całkowitej (RR 4,02; 95% CI: 1,95–8,28) i częściowej (RR 3,44; 95% CI: 1,61–7,36), a także zmniejszonym ryzykiem progresji (RR 0,21, 95% CI: 0,13–0,34). InhBCR zwiększały jednakże ryzyko ciężkich AE (RR 1,32; 95% CI: 1,17–1,50), ale nie AE związanych z dyskontynuacją (RR 1,26; 95% CI: 0,88–1,81) lub śmiercią (RR 1,06; 95% CI: 0,72–1,57). Na żadnym etapie metaanalizy nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy między idelalisibem i ibrutinibem.

Wnioski: Idelalisib i ibrutinib cechują się znacząco wyższą efektywnością niż stosowane obecnie leki w przebiegu nawrotowej i opornej przewlekłej białaczki limfocytowej. Pomimo zwiększonego ryzyka ciężkich objawów niepożądanych, wykazują akceptowalny profil bezpieczeństwa, dlatego powinny być brane pod uwagę w planowaniu terapii nawrotowej i opornej przewlekłej białaczki limfocytowej.

KINAZY PIM ULEGAJĄ INDUKCJI POD WPŁYWEM SYGNAŁÓW Z MIKROŚRODOWISKA I PROMUJĄ ŚCIEŻKĘ SYGNAŁOWĄ CXCR4/MTOR NIEZBĘDNĄ DO MIGRACJI KOMÓREK PRZEWLEKŁEJ BIAŁACZKI LIMFOCYTOWEJ

dr Emilia Białopiotrowicz, dr Patryk Górniak,
dr Bartosz Puła, mgr Monika Noyszewska-Kania,
mgr Hanna Makuch-Łasica, mgr Grażyna Nowak,
mgr Aleksandra Bluszcz, dr Maciej Szydlowski,
dr Ewa Jabłońska, dr Tomasz Sewastianik,
dr Anna Polak, prof. Ewa Lech-Marańda,
dr Bożena Budziszewska, mgr Maja Wasylecka,
dr Katarzyna Borg, prof. Krzysztof Warzocha,
dr Wojciech Czardybon, dr Michał Gałęzowski,
dr Renata Windak, dr Krzysztof Brzóška,
prof. Przemysław Juszczynski

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Środowisko węzła chłonnego zaopatruje komórki przewlekłej białaczki limfocytowej (CLL) w sygnały promujące przeżywalność i chemiooporność. Kinazy PIM fosforylują białka regulujące apoptozę oraz migrację. Inhibicja kinaz PIM może zatem hamować interakcje komórek CLL z mikrośrodowiskiem i działać antyapoptotycznie.

Cel: Celem badań była ocena wpływu mikrośrodowiska na ekspresję kinaz PIM, zbadanie związku pomiędzy ekspresją kinaz PIM a klinicznym obrazem choroby oraz sprawdzenie konsekwencji zahamowania kinaz PIM w pierwotnych komórkach CLL.

Materiał i metody: Ekspresję kinaz PIM oceniono w komórkach CLL uzyskanych od 88 chorych metodami RQ-PCR i Western blot. Apoptozę oznaczono barwieniem aneksynąV/jodek propidyny. Poziom białek i ich stan fosforylacji analizowano metodą Western blot i cytometrią przepływową. Migrację komórek CLL oceniono w teście chemotaksji w gradiencie CXCL12.

Wyniki: Chorzy z niezmutowanymi genami IGHV charakteryzowali się wyższą ekspresją PIM1 niż chorzy z mutacjami w IGHV. Ekspresja izoform kinaz PIM w chwili rozpoznania była wyższa u chorych w zaawansowanym stadium (Binet C) i u tych chorych, u których doszło do progresji po pierwszej linii leczenia. Komórki CLL z węzłów chłonnych wykazywały wyższą ekspresję PIM2 i PIM3 niż komórki z krwi obwodowej, co wskazuje na wpływ mikrośrodowiska na indukcję tych kinaz. Inkubacja komórek CLL z przeciwciałem anti-IgM/ligan- dem CD40/fibroblastami powodowała wzrost ekspresji kinaz PIM. Zahamowanie aktywności tych białek przy użyciu inhibitora SEL24-B489 upośledzało migrację komórek CLL w gradiencie CXCL12 poprzez obniżenie powierzchniowej ekspresji receptora CXCR4 oraz zahamowanie aktywności kinazy mTOR niezbędnej dla transdukcji sygnału od CXCR4. Ponadto SEL24-B489 powodował spadek fosforylacji substratów kinaz PIM (p4EBP1, pFOXO1/FOXO3a, pBAD) i indukcję apoptozy, również w obecności komórek stromalnych. SEL24-B489 indukował śmierć komórek z delecją 17p13, ale był nietoksyczny dla limfocytów B pobranych od osób zdrowych.

Wnioski: Nasze badania wskazują, że ekspresja kinaz PIM jest regulowana przez sygnały z mikrośrodowiska węzłowego. Zahamowanie aktywności kinaz PIM powoduje spadek migracji komórek CLL i indukcję apoptozy w mechanizmie niezależnym od białka p53. Kinazy PIM mogą zatem stanowić racjonalny cel terapeutyczny w CLL.

WPŁYW STANU MUTACYJNEGO IGVH NA WYBRANE PARAMETRY LIMFANGIOGENEZY U CHORYCH NA PRZEWLEKŁĄ BIAŁACZKĘ LIMFOCYTOWĄ

dr Ewelina Ziółkowska¹, dr Anna Krawczyńska²,
mgr Paulina Pławsiuk¹, student Aldona Gryczyńska¹,
dr Jerzy Błoński¹, prof. Ewa Lech-Marańda³,
prof. Tadeusz Robak¹, prof. Anna Korycka-Wołowiec¹

¹Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Wojewódzkie Wielospecjalistyczne Centrum Onkologii i Traumatologii w Łodzi

³Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: U chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową (PBL) nie opublikowano dotychczas badań doty-

czących ewentualnego związku pomiędzy stanem mutacyjnym części zmiennej genu kodującego łańcuchy ciężkie immunoglobulin (IGHV) a angiogenezą i limfangiogenezą.

Cel: Celem badania była pośrednia ocena limfangiogenezy na podstawie osocznego stężenia wybranych cytokin oraz liczby krążących komórek śródbłonna u chorych na PBL z uwzględnieniem IGVH.

Materiał i metody: Materiał stanowiła krew obwodowa 93 nieleczonych chorych na PBL (42K i 51M) oraz 28 zdrowych ochotników. U 28 chorych (10K i 18M) wykonano analizę stanu mutacyjnego IGVH. Mutacje wykryto u 12 (IGVH-MUT), natomiast niezmutowany gen u 16 chorych (IGVH-UNMUT). Osoczone stężenie naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF-C, VEGF-D), receptora VEGF-R3 oraz białka antyapoptotycznego – midkiny (MK), oznaczano metodą ELISA, natomiast całkowitą liczbę krążących komórek śródbłonna (tCECs) i ich subpopulacji (CEPCs – komórki progenitorowe, aCECs – aktywowane, rCECs – spoczynkowe i ApCECs – apoptotyczne) metodą cytometryczną z zastosowaniem odpowiednich przeciwciał.

Wyniki: Bezwzględna liczba limfocytów krwi obwodowej była znamienne wyższa w grupie IGVH-UNMUT niż IGVH-MUT ($p = 0,02$). Stężenie VEGF-C było znamienne wyższe u wszystkich chorych niż w grupie kontrolnej, jednak nie różniło się pomiędzy grupami IGVH-MUT i IGVH-UNMUT. U chorych IGVH-UNMUT wykazano ujemne korelacje pomiędzy stężeniem VEGF-D a stężeniem Hb ($R = -0,56$ i $p = 0,02$) oraz pomiędzy stężeniem VEGF-R3 a bezwzględną liczbą limfocytów ($R = -0,75$, $p = 0,004$). Korelacji takich nie wykazano w grupie kontrolnej. Ponadto w grupie IGVH-MUT stwierdzono dodatnie korelacje pomiędzy stężeniem VEGF-C a VEGF-R3 oraz pomiędzy VEGF-D a MK, natomiast w grupie kontrolnej VEGF-C korelował ujemnie z MK. Liczba tCECs i CEPCs zarówno u wszystkich chorych, jak i w grupach IGVH-MUT i IGVH-UNMUT była znamienne wyższa niż w grupie kontrolnej, lecz nie różniła się pomiędzy IGVH-MUT i IGVH-UNMUT. Liczba rCECs była znamienne wyższa u wszystkich chorych oraz w grupie IGVH-MUT, a liczba ApCECs w grupie IGVH-UNMUT w porównaniu z kontrolą. W grupie IGVH-MUT wykazano dodatnie korelacje pomiędzy rCECs a VEGF-C i VEGF-R3 oraz pomiędzy Ap.CECs a VEGF-C.

Wniosek: Mechanizmy regulacyjne limfangiogenezy w PBL prawdopodobnie wykazują odrębności w zależności od stanu mutacyjnego IGVH.

Praca finansowana z działalności statutowej Kliniki Hematologii nr 503/1-093-01/503-04.

Introduction: No data about possible relationship between the mutation status of the variable region of the immunoglobulin heavy chain gene (IGHV) and angiogenesis and lymphangiogenesis in patients with

chronic lymphocytic leukemia (CLL) has been published so far.

Aim: The aim of the study was to assess indirectly the lymphangiogenesis in patients with CLL by the measurement of the plasma concentration of selected cytokines and the number of circulating endothelial cells with regard of IGVH mutation status.

Materials and methods: Peripheral blood of 93 untreated CLL patients (42 woman and 51 man) and 28 healthy volunteers was assessed. The IGVH mutations were detected in 12 patients (IGVH-MUT), while the unmutated gene in 16 patients (IGVH-UNMUT). The vascular endothelial growth factor (VEGF-C, VEGF-D), their receptor VEGF-R3, and the anti-apoptotic protein – midkine (MK) were determined by ELISA, the total number of circulating endothelial cells (tCECs) and their subpopulations (CEPCs – progenitor cells, aCECs – activated cells, rCECs – resting cells and ApCECs – apoptotic cells) by flow cytometry using appropriate antibodies.

Results: The absolute number of peripheral blood lymphocytes was significantly higher in the IGVH-UNMUT group than IGVH-MUT one ($p = 0.02$). VEGF-C was significantly higher in patients than in control group, but did not differ between IGVH-MUT and IGVH-UNMUT groups. IGVH-UNMUT group showed a negative correlation between VEGF-D and Hb concentrations ($R = -0.56, p = 0.02$) and between VEGF-R3 and absolute number of lymphocytes ($R = -0.75, p = 0.004$). Such correlations has not been demonstrated in the control group. In addition, in IGVH-MUT group, VEGF-C correlated positively with VEGF-R3 and VEGF-D correlated with MK, whereas in the control group VEGF-C correlated negatively with MK. The number of tCECs and CEPCs was significantly higher in the whole patients population, as well as in both IGVH-MUT and IGVH-UNMUT groups, than in the control one. No difference between IGVH-MUT and IGVH-UNMUT groups in this regard was shown. The rCECs number was significantly higher in the whole patients population, and in the IGVH-MUT group and the number of ApCECs in the IGVH-UNMUT group as compared to the control group. Furthermore, in the IGVH-MUT group rCECs correlated positively with VEGF-C and VEGF-R3, and ApCECs with VEGF-C.

Conclusion: The regulatory mechanisms of lymphangiogenesis in CLL are likely to be different according to the IGVH mutational status of CLL cells.

This study was funded by from grant No. 503/1-093-01/503-04.

Plakaty

P1. CHŁONIAK GRUDKOWY JAKO CHOROBA O HETEROGENNEJ MANIFESTACJI KLINICZNEJ – OPIS PRZYPADKÓW O LOKALIZACJI POZAWĘZŁOWEJ

Aleksandra Melisz

Zakład Profilaktyki Chorób Nowotworowych,
Wydział Zdrowia Publicznego, Śląski Uniwersytet Medyczny
w Katowicach

Wstęp: Chłoniak grudkowy (FL) pod względem częstości jest drugim, po chłoniaku rozlanym z dużych komórek B, chłoniakiem nie-Hodgkina rozpoznawanym w USA i krajach Europy Zachodniej i stanowi ok. 70% chłoniaków indolentnych. Głównym objawem klinicznym jest powiększenie węzłów chłonnych, ale często stwierdza się również zajęcie innych narządów limfatycznych (śledziony, pierścienia Waldeyera). Zdecydowanie rzadziej stwierdza się pierwotną manifestację nieobjęującą narządów limfatycznych FL. Najczęściej zajęta bywa skóra oraz przewód pokarmowy. Opisywano przypadki FL z pierwotnym zajęciem: przydatków oka, piersi, jąder, ślinianek, tarczycy, ośrodkowego układu nerwowego (OUN), nerki, trzustki.

Materiał i metody: Chora, 52 lata, z rozpoznaniem 26.11.2012 r. chłoniakiem grudkowym pozawęzłowym, pierwotnie skórnym, FLIPI 1. Od listopada 2012 r. obserwowana guzowata zmiana w powłokach skórnych lewej połowy klatki piersiowej. Rozpoznanie postawiono na podstawie badania histopatologicznego. W przebiegu choroby podobne zmiany zaobserwowano w tkance podskórnej okolicy uda lewego i sutka lewego. W grudniu 2016 r. w wykonanym badaniu PET/CT progresja wielkości zmian z obecnością wtórnie zajętych węzłów chłonnych pachy i pachwiny lewej. Do lutego 2017 r. chora pozostawała pod opieką innego ośrodka, nie otrzymywała leczenia przeciwnowotworowego. Chory, 61 lat, z rozpoznaniem 20.02.2017 r. chłoniakiem grudkowym odbytnicy, FLIPI 1. Pierwszymi objawami choroby była obecność krwi przy oddawaniu stolca oraz dolegliwości bólowe w lewym podbrzuszu. Rozpoznanie ustalono na podstawie badania histopatologicznego wycinków ze zmienionej naciekowo odbytnicy. W wykonanych badaniach CT szyi, klatki piersiowej, jamy brzusznej i miednicy nie uwidoczniło innych ognisk chłoniaka. W obu przypadkach chorzy nie zgłaszali objawów ogólnych choroby, w morfologii krwi obwodowej nie stwierdzano odchyleń, a w wykonanych badaniach szpiku nie stwierdzono nacieku komórkami limfoidalnymi. U obojga chorych od marca 2017 r. zastosowano standardowe leczenie w oparciu o immunochemioterapię R-COP. Aktualnie chorzy kontynuują leczenie I linii. Nie obserwuje się istotnych objawów ubocznych zastosowanego leczenia.

Wyniki i wnioski: Chłoniak grudkowy jest bardzo heterogenną chorobą i może się manifestować bardzo różnorodnie, zwłaszcza przy pierwotnym zajęciu orga-

nów pozawęzłowych. Ocena efektów stosowanej terapii i następnie obserwacja chorych pozwolą na określenie przebiegu rzadko obserwowanych przypadków choroby o lokalizacji pierwotnie pozawęzłowej.

P2. PODSKÓRNA POSTAĆ RYTUKSYMABU – WYGODA STOSOWANIA I BEZPIECZEŃSTWO CHORYCH – WSTĘPNE DONIESIENIE NA PODSTAWIE DANYCH Z JEDNEGO OŚRODKA

dr Ewa Paszkiewicz-Kozik, dr Joanna Romejko-Jarosińska, dr Marcin Szymański, dr Anna Borawska, dr Anna Dąbrowska-Iwanicka, dr Katarzyna Domańska-Czyż, dr Agnieszka Druzd-Sitek, dr Robert Konecki, dr Martyna Kotarska, dr Włodzimierz Osiadacz, dr Michał Osowiecki, dr Beata Ostrowska, dr Lidia Popławska, dr Monika Świerkowska-Czeneszew, dr Joanna Tajer, dr Łukasz Targoński, dr Elżbieta Wojciechowska-Lampka, dr Janusz Meder, prof. Jan Walewski

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Wstęp: Rytuksymab u chorych na chłoniaki z komórek B jest podawany we wlewie dożylnym trwającym od 90 minut do kilku godzin. Od 2014 r. dostępna jest postać podskórna rytuksymabu (Rsc), którą stosuje się od drugiego cyklu w stałej dawce 1400 mg niezależnie od powierzchni ciała pacjenta. W Polsce Rsc jest dopuszczony do stosowania łącznie z chemioterapią u chorych na chłoniaka rozlanego z dużych komórek B (DLBCL) i chłoniaka grudkowego (FL) w leczeniu indukcyjnym oraz terapii podtrzymującej i nawrotu FL.

Cel: Celem opracowania jest przedstawienie wczesnego bezpieczeństwa Rsc oraz korzyści dla chorych i personelu medycznego podawania tej formy leku.

Materiał i metody: Od 31 stycznia 2017 r. do 12 czerwca 2017 r. 105 chorych otrzymało co najmniej jedno podanie Rsc, 35 mężczyzn (33%), mediana wieku 61 lat (19–88). W grupie jest 45 (43%) chorych na DLBCL leczonych Rsc z CHOP, 60 (57%) na FL: 16 było leczonych indukcyjnie z chemioterapią, 9 chorych z chemioterapią w nawrocie. Stosowano programy chemioterapii: CVP (6 chorych), CHOP (11), chlorambucil (1), bendamustynę (2). Rytuksymab s.c. w leczeniu podtrzymującym po 1. linii podano 32 chorym, 3 w nawrocie. Rsc podawano w drugim lub w kolejnych cyklach leczenia, jeśli podczas pierwszego podania preparatu dożylnego nie wystąpiły reakcje 3. lub 4. stopnia. 30 minut przed podaniem Rsc stosowano premedykację, jeśli podawano Rsc w monoterapii, w formie doustnej.

Wyniki: Ogółem podano 292 iniekcji podskórnych rytuksymabu: 144 u chorych na DLBCL oraz 148 u chorych na FL z chemioterapią (63) lub jako monoterapia (85). Czas pojedynczego wlewu podskórnego trwał od 5 do 10 minut. Wystąpiły 2 skórne działania niepożądane

stopnia 1. i jedno 2. w postaci zmian rumieniowych. Jednorazowo zastosowano miejscowo maść z hydrokortyzonu. Jedna pacjentka zrezygnowała z leczenia Rsc z powodu wystąpienia objawów dyspeptycznych 1./2. stopnia. Czas przebywania chorych na oddziale dziennym skrócił się do ok. 45 minut od podania premedykacji, jeśli stosowano Rsc podtrzymująco. Pacjenci leczeni łącznie z chemioterapią rozpoczynali cytostatyki bezpośrednio po iniekcji podskórnej przeciwciała.

Wnioski: Podawanie Rsc znacząco skróciło czas pobytu chorych na sali pobytu dziennego. Rsc jest bezpieczny, w analizowanej grupie miejscowe odczyny skórne wystąpiły niezmiennie rzadko. Rsc nie wpływa na rytm stosowania chemioterapii. Aby ostatecznie potwierdzić rolę Rsc, planujemy analizę skuteczności chemioterapii i Rsc oraz skierowanie do pacjentów ankiety oceniającej ich nastawienie do terapii Rsc.

TRANSPLANTACJE KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH 1

PRZEWODNICZĄCY:

**B. PIĄTKOWSKA-JAKUBAS (KRAKÓW),
P. RZEPECKI (WARSZAWA)**

Doniesienia ustne

NIEDOKRWISTOŚĆ MEGALOBLASTYCZNA W PRZEBIEGU ZESPOŁU LESCHA-NYHANA

**dr Cecilia Kämpe Björkvall¹,
dr med. Monika Klimkowska², dr Egle Sumskiene³,
dr med. Grazina Kleintienė⁴,
dr hab., prof. UR Maciej Machaczka^{3,5}**

¹Department of Medicine, Sunderby Regional Hospital of Norrbotten County, Luleå, Sweden

²Department of Clinical Pathology and Cytology, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

³Hematology Center Karolinska, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

⁴Centre of Hematology and Oncology, Children's Hospital, Affiliate of Vilnius University Hospital Santariskiu Clinics, Vilnius, Lithuania

⁵Wydział Medyczny, Uniwersytet Rzeszowski

Wstęp: Zespół Lescha-Nyhana (LNS) jest bardzo rzadką, wrodzoną chorobą metabolizmu puryn. Przyczyną choroby jest mutacja w genie HPRT1 na chromosomie Xq26-27 kodującym enzym fosforybozylotransferazę hipoksantynowo-guaninową (HPRT lub HGPRT). Dziedziczenie LNS jest recesywne związane z chromosomem X, chorują prawie wyłącznie mężczyźni (kobiety mogą zachorować, gdy gen na drugim chromosomie X jest inaktywowany). Częstość występowania LNS wynosi 1–9 chorych na 1 mln osób. LNS to najcięższa postać niedoboru HPRT. Całkowity lub prawie całkowity niedobór HPRT powoduje rozwój choroby. Dziecko zwykle

rodzi się zdrowe, ale już 3–6 miesięcy po urodzeniu ujawnia się opóźnienie rozwoju psychoruchowego. Stwierdza się hiperurykemię, zaburzenia funkcji nerek, stawów oraz układu nerwowego (zaburzenia funkcji neurologicznych, poznawczych oraz zachowania – samookaleczanie). W rzadkich przypadkach możliwe jest wystąpienie w przebiegu LNS niedokrwistości megaloblastycznej. Niedokrwistość ta nie jest stałą cechą LNS, lecz występuje tylko u niektórych chorych i jest oporna na leczenie witaminą B₁₂ (B₁₂) oraz kwasem foliowym (FA). Uważa się, że jej przyczyną jest zwiększone zużycie FA lub B₁₂, choć nie odpowiada ona na suplementację tymi witaminami.

Cel: Przedstawiamy pacjenta z LNS z ciężką, oporną na leczenie niedokrwistością megaloblastyczną. Chorego udało się wyleczyć, stosując adeninę.

Materiał i metody: Mężczyzna, 25 lat, z LNS (porażenie mózgowie, zachowania autodestrukcyjne, niewydolność nerek), skierowany do hematologa z powodu utrzymującej się objawowej niedokrwistości makrocytarnej (Hb 96 g/L, MCV 114 fL) i dyskretnej małopłytkowości ($139 \times 10^9/L$), pomimo próby leczenia przez 3 miesiące B₁₂ i FA. Upřednio przez wiele lat stabilne stężenia Hb (120–124 g/L). Szpik kostny (BM) z wyraźnymi zaburzeniami dojrzewania we wszystkich liniach hematopoezy – obraz jak MDS z wieloliniową dysplazją. Zastosowano specjalnie przygotowane (Apoteket AB) kapsułki z adeniną 300 mg $\times$ 3 p.o. z dramatyczną poprawą wartości Hb w ciągu 1 miesiąca (z 100 g/L do 132 g/L). Kontrolne badanie BM po 6 miesiącach leczenia wykazało wyraźną poprawę obrazu szpiku.

Wyniki i wnioski: W prezentowanym przypadku udało się w krótkim czasie wyleczyć mężczyznę z LNS z niedokrwistości oraz uzyskać normalizację MCV, stosując adeninę. Uzyskany efekt leczenia jest trwały, utrzymuje się od ponad 6 lat. W przypadku wystąpienia niedokrwistości megaloblastycznej w przebiegu LNS należy włączyć leczenie adeniną – zapomnianą witaminą B₄.

Introduction: Lesch-Nyhan syndrome (LNS) is a very rare, inherited disease of purine metabolism. A deficiency of the enzyme hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) causes dysfunction of the nervous system and kidneys. In rare cases, an occurrence of megaloblastic anemia refractory to treatment with vitamin B₁₂ and folic acid is possible.

Aim: We present a case of a young man who developed severe megaloblastic anemia in the course of LNS. His anemia has been cured thanks to the use of adenine.

Material and methods: A 25-year-old man with LNS developed megaloblastic anemia (Hb 96 g/L, MCV 114 fL) refractory to 3 months treatment with vitamin B₁₂ and folic acid. His bone marrow (BM) examination revealed multilineage dysplasia resembling a myelodysplastic syndrome. A chronic use of oral adenine (formerly known as a vitamin B₄), in a dose of 300 mg t.i.d. rapidly cured the patient within one month (Hb concentration has increased from 100 g/L to 132 g/L). Moreover, BM biopsy taken 6 months from the start of adenine showed significantly improved results.

Results and conclusions: The patient's megaloblastic anemia has been permanently cured thanks to the chronic oral use of adenine – the forgotten vitamin B₄. The effect of the adenine therapy remains stable since 6 years until now.

TRANSPLANTACJA KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH OD DAWCÓW HAPLOIDENTYCZNYCH – DOŚWIADCZENIA WŁASNE OŚRODKA TRANSPLANTACYJNEGO

lek. Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka¹,
dr Jacek Najda², lek. Włodzimierz Mendrek²,
dr Maria Saduś-Wojciechowska², dr Tomasz Czerw²,
dr Andrzej Smagur², dr Wojciech Fidyk²,
dr Iwona Mitrus², prof. Jerzy Hołowiecki²,
prof. Sebastian Giebel²

¹Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział Gliwice

²Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Wstęp: Od listopada 2014 r. w ośrodku wykonano 22 transplantacje komórek krwiотwórczych od dawców haploidentycznych (haploHCT).

Cel: Celem pracy jest ocena przebiegu procedury i wyników leczenia.

Materiał i metody: Analizą objęto 13 kobiet i 9 mężczyzn w wieku 38 lat (mediana, zakres 26–65 lat). Wskazaniem do transplantacji było: AML ($n = 6$), ALL ($n = 2$), MDS ($n = 3$), CML ($n = 2$), OMF ($n = 1$), HL ($n = 6$), NHL ($n = 1$). U 4 chorych haploHCT wykonano z powodu niepowodzenia wcześniejszej procedury transplantacyjnej od dawcy zgodnego w zakresie HLA, u 5 – po wcześniej autotransplantacji, u 1 – po obu typach procedury. U 12 pacjentów zastosowano leczenie kondycjonujące mieloablacyjne (Fludarabina+TBI 12 Gy – 5 pt, Fludarabina+TBI 8 Gy – 4 pt, Bendamustyna+TBI 12 Gy – 1 pt, BeEAM – 2 pt), u 3 – o zredukowanej intensywności (Fludarabina+TBI 6 Gy – 1 pt, Fludarabina+Melfalan – 1 pt, Fludarabina+Busulfan – 1 pt) oraz u 7 pacjentów – niemieloablacyjne (Cyklofosfamid+ Fludarabina+TBI 2 Gy – 7 pt). Protokół immunosupresji obejmował: cyklofosfamid 50 mg/kg m.c. w dniach +3 i +4, mykofenolan mofetylu 3 g/dobę od +5 do +35 doby oraz takrolimus w dawce dostosowanej do stężenia od dnia +5.

Wyniki: U 13 chorych nie wystąpiły istotne powikłania. Tylko u 3 pacjentów wystąpiły objawy GvHD – postać skórna 2. i 3. stopnia. U 3 pacjentów w fazie aplazji potęropeutycznej stwierdzono zapalenie płuc, u 1 – zapalenie tkanek miękkich, u 4 – powikłania o charakterze naczyniowym związane z procedurą transplantacyjną. U 2 pacjentów ze względu na pierwotny brak wszczepu lub jego utratę wykonano do-

szpikowo przeszczepienie komórek krwiotwórczych CD34+ po ich pozytywnej selekcji, uzyskując wszczep. U 1 pacjenta wykonano DLI powodu progresji choroby. Trzech pacjentów zmarło w trakcie procedury z powodu powikłań infekcyjnych, 4 pacjentów – z powodu powikłań naczyniowych, 2 pacjentów – z powodu progresji choroby zasadniczej. Przy medianie obserwacji wynoszącej 12 miesięcy przeżycia całkowitego i wolnego od progresji wyniosło 61% ($\pm 11\%$).

Wnioski: Uwzględniając, że analizowana grupa była obciążona bardzo dużym ryzykiem niepowodzenia wynikającego ze stopnia zaawansowania choroby oraz stosowanego uprzednio leczenia, uzyskane wyniki są zachęcające. Przeszczepienie haploidentyczne jest opcją terapeutyczną dla wielu pacjentów wymagających transplantacji, nieposiadających dawcy rodzinnego lub optymalnego dawcy niespokrewnionego, szczególnie w przypadku, gdzie przeszczepienie powinno być wykonane w trybie pilnym.

ZBLIŻONE ROKOWANIE DOROSŁYCH PACJENTÓW Z ZESPOŁEM HEMOFAGOCYTOWYM (HLH) PODDANYCH KONDYCJONOWANIU MIELOABLACYJNEMU I O ZREDUKOWANEJ INTENSYWNOŚCI: RETROSPEKTYWNE BADANIE EBMT – CMWP (CHRONIC MALIGNANCIES WORKING PARTY) I IEWP (INBORN ERRORS WORKING PARTY)

lek., mgr biol. Rafał Machowicz¹, prof. Felipe Suarez², prof. Wiesław Jędrzejczak¹, dr Diderik-Jan Eikema³, dr Liesbeth de Wreede³, mgr Henric-Jan Blok³, prof. Cecilia Isaksson⁴, prof. Xavier Poiré⁵, prof. Manos Nikolousis⁶, prof. Guido Kobbe⁷, prof. Herman Einsele⁸, prof. Renate Arnold⁹, prof. Francesca Bonifazi¹⁰, prof. Grant McQuacker¹¹, prof. Stig Lenhoff¹², prof. Pierre-Simon Rohrlach¹³, Matthias Theobald¹⁴, prof. Per Ljungman¹⁵, prof. Nicolaas Schaap¹⁶, prof. Matthew Collin¹⁷, prof. Michael Albert¹⁸, prof. Jürgen Finke¹⁹, prof. Gerhard Ehninger²⁰, prof. Kristina Carlson²¹, prof. Kazimierz Hałaburda²², Jan-Erik Johansson²³, prof. Marco Zecca²⁴, J. Diez-Martin²⁵, Kai Lehmborg²⁶, prof. Stefan Schönland²⁷, Arjan Lankester²⁸, prof. Andrew Gennery²⁹, prof. Nicolaus Kroeger³⁰

¹Department of Hematology, Oncology and Internal Diseases, Medical University of Warsaw, Poland

²Hôpital Necker, Paris, France

³Dept. Medical Statistics & Bioinformatics, LUMC, Leiden, The Netherlands

⁴Umea University Hospital, Umeå, Sweden

⁵Cliniques Universitaires St. Luc, Brussels, Belgium

⁶Birmingham Heartlands Hospital, Birmingham, UK

⁷Heinrich Heine Universität, Düsseldorf, Germany

⁸Universitätsklinikum Würzburg, Würzburg, Germany

⁹Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

¹⁰St. Orsola University Hospital, Bologna, Italy

¹¹Gartnavel General Hospital, Glasgow, UK

¹²Skanes University Hospital, Lund, Sweden

¹³CHU Nice – Hôpital de l'ARCHET I, Nice, France

¹⁴University Medical Center Mainz, Mainz, Germany

¹⁵Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

¹⁶Radboud University Medical Centre, Nijmegen, The Netherlands

¹⁷Freeman Hospital, Newcastle-Upon-Tyne, UK

¹⁸Haunersches Kinderspital, Munich, Germany

¹⁹University of Freiburg, Freiburg, Germany

²⁰Universitätsklinikum Dresden, Dresden, Germany

²¹University Hospital, Uppsala, Sweden

²²Institute of Hematology and Transfusion Medicine, Warsaw, Poland

²³Sahlgrenska University Hospital, Goeteborg, Sweden

²⁴Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italy

²⁵Hospital Gregorio Marañón, Madrid, Spain

²⁶University Hospital Eppendorf, Hamburg, Germany

²⁷University of Heidelberg, Heidelberg, Germany

²⁸Leiden University Hospital, Leiden, The Netherlands

²⁹Institute of Cellular Medicine, Newcastle University, Newcastle-Upon-Tyne, UK

³⁰University Hospital Eppendorf, Hamburg, Germany

Wstęp: Przeszczepienie alogenicznych komórek krwiotwórczych (alloSCT) jest wskazane w rodzinnym, nawrotowym lub postępującym zespole hemofagocytowym (HLH; limfohistiocytoza hemofagocytowa). U dzieci dużo lepsze wyniki daje zastosowanie kondycjonowania o zredukowanej intensywności (RIC). Informacje na temat alloSCT u dorosłych z HLH są bardzo ograniczone.

Cel: Celem pracy była retrospektywna analiza informacji zawartych w bazach EBMT (*European Group for Blood and Marrow Transplantation*) dotyczących alogenicznego przeszczepienia komórek krwiotwórczych dorosłych pacjentów z HLH.

Materiał i metody: Analizowano dane 70 dorosłych (≥ 18 lat) pacjentów przeszczepionych z powodu HLH. Dodatkowo dla 33 pacjentów uzyskano odpowiedź na wysłany do ośrodków kwestionariusz.

Wyniki: Mediana wieku podczas transplantacji wynosiła 28 lat (18–65). Występowała niewielka przewaga odsetka mężczyzn: 64% (45/70). Jedna trzecia pacjentów (33%; 22/67) otrzymała kondycjonowanie o zredukowanej intensywności (RIC), pozostałych 45 – mieloablacyjne (MAC). Mediana przeżycia wynosiła 9,4 miesiąca, a trzyletnie przeżycie 41% (95% CI: 29–54%). Dla pacjentów, którzy przeżyli 3 miesiące, ten współczynnik był bardziej korzystny i wynosił 61% (95% CI: 46–77%). Po 12 miesiącach nie obserwowano wznowy HLH – skumulowana zapadalność wynosiła 15% (95% CI: 5–24%). Śmiertelność niezwiązana ze wznową HLH (NRM) po 15 miesiącach wynosiła 35% (95% CI: 22–47%). Obserwowana u dzieci przewaga kondycjonowania o zredukowanej intensywności (RIC) nie została potwierdzona w tej grupie dorosłych – pokrywające się krzywe przeżycia dla RIC i MAC. Dane z 33 kwestionariuszy potwierdzają typowy dla HLH obraz kliniczny przy rozpoznaniu: gorączka (97%; 31/33), splenomegalia (93%; 28/30), hemofagocytoza (87%; 26/30) i hiperferytynemii z medianą stężenia

6102 ng/ml (63–260 160). Najczęściej mutacje wykrywano w genie STXBP2 (6/15).

Wnioski: Wedle naszej najlepszej wiedzy jest to największa dotychczas analizowana grupa dorosłych pacjentów przeszczepionych z powodu HLH. Inaczej niż u dzieci, u dorosłych nie stwierdzono różnicy w przeżyciu pomiędzy rodzajami kondycjonowania (RIC i MAC). Względnie niski odsetek wznów HLH potwierdza, że przeszczepienie alogenicznych komórek krwiotwórczych może skutecznie wyleczyć HLH. Pacjenci, którzy przeżyją pierwszy okres po tym zabiegu, mogą liczyć na długie przeżycie wolne od choroby.

Introduction: Allogeneic stem cell transplantation (alloSCT) is indicated in familial, recurrent or progressive hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH; hemophagocytic syndrome). Data the pediatric setting shows much better outcomes of reduced intensity conditioning (RIC) as compared to myeloablative conditioning (MAC). Information about alloSCT in HLH adults is very limited.

Aim: The aim of this study was to retrospectively analyze the information from the EBMT databases about adult HLH patients who underwent allogeneic stem cell transplantation.

Material and methods: We obtained data of 70 adult (≥ 18 years of age) patients transplanted due to HLH. Additionally, 33 responses from the clinical centers were received for an HLH-oriented questionnaire.

Results: Median age at transplantation was 28 (range: 18–65). There was a slight male predominance 45/70 (64%). Reduced intensity conditioning was used in 22/67 (33%) of patients. The median survival time was 9.4 months. The three year OS was 41% (95% CI: 29–54%). For patients who survived until 3 months, this proportion was more favorable with an OS of 61% (95% CI: 46–77%) at 3 years after transplantation. After 12 months no relapses of HLH were recorded – the cumulative incidence reached 15% (95% CI: 5–24%). The non-relapse mortality reached 35% (95% CI: 22–47%) after 15 months. Superiority of reduced intensity conditioning (RIC) observed in children was not confirmed in this adult patient population – overlapping survival curves for RIC and MAC. Data from 33 questionnaires have confirmed clinical picture typical for HLH at the diagnosis: fever in 31/32 (97%), splenomegaly in 28/30 (93%), hemophagocytosis 26/30 (87%) and hyperferritinemia with median concentration of 6,102 ng/ml (range: 63–260,160). Gene with the most frequently found mutations was STXBP2 (6/15).

Conclusions: To our knowledge, this is the largest analyzed group of adult patients with HLH who underwent allogeneic stem cell transplantation. Unlike the pediatric population, in adult patients there was no difference in terms of survival between the conditioning types. Relatively low relapse incidence confirms that alloSCT can effectively cure HLH. Patients who survive the first period after this procedure can expect a long disease-free survival.

IZOLOWANE WZNOWY POZASZPIKOWE U CHORYCH Z OSTRYMI BIAŁACZKAMI SZPIKOWYMI PO ALLOGENICZNEJ TRANSPLANTACJI KRWIOTWÓRCZYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH – ANALIZA JEDNOOŚRODKOWA 378 PACJENTÓW

Dariusz Kata, Małgorzata Kopera, Mirosław Markiewicz, Anna Wacławik, Krzysztof Białas

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Wstęp: Izolowane wznowy pozaszpikowe (IER) należą do coraz częściej raportowanych późnych powikłań u chorych z ostrymi białaczkami leczonych z zastosowaniem allotransplantacji krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT).

Cel: Celem badań było przeprowadzenie retrospektywnej analizy występowania, charakterystyki klinicznej i wyników leczenia IER u pacjentów chorych na ostre białaczki szpikowe (AML) poddanych allo-HSCT.

Materiał i metody: W analizie retrospektywnej oceniono 378 kolejnych pacjentów z AML, którzy przebyli zabieg allo-HSCT w naszym ośrodku pomiędzy czerwcem 1993 a marcem 2013 r.

Wyniki: U 53 chorych stwierdzono nawrót choroby, w tym u 11 (21 %) pacjentów, K/M 3/8, mediana wieku 40 lat, zakres 25–60 lat, stwierdzono po medianie czasu obserwacji wynoszącym 10 miesięcy (zakres 6–80 miesięcy) izolowane wznowy miejscowe, potwierdzone badaniami immunohistochemicznymi bądź cytofluorymetrycznymi. U 3 pacjentów zaobserwowano zajęcie skóry i/lub tkanki podskórnej, u pozostałych nacieki obejmowały: (lokalizacja/liczba przypadków): opony mózgowo-rdzeniowe/3, przykręgosłupowe tkanki miękkie/1, jelito cienkie/1, węzły chłonne/1, zatoki oboczne nosa/1, gruczoł sutkowy/1. Leczenie IER obejmowało (metoda terapii/liczba przypadków): 1/systemową chemioterapię/5, 2/systemową chemioterapię oraz powtórne allo-HSCT/4, zastosowanie imatinibu, następnie dasatinibu/1, leczenie chirurgiczne/1. U chorych z zajęciem opon mózgowo-rdzeniowych zastosowano dokanałowe podawanie cytarabiny, uzupełnione w jednym przypadku o radioterapię ośrodkowego układu nerwowego. 10/11 pacjentów zmarło po medianie czasu obserwacji wynoszącym 9 miesięcy (zakres 1–25 miesięcy) z powodu opornej, uogólnionej wznowy białaczki, powikłań infekcyjnych lub zaawansowanej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. 1 pacjent żyje nadal bez objawów choroby zasadniczej w +91. miesiącu po allo-HSCT.

Wnioski: IER po allo-HSCT występują u istotnej części chorych z AML. Ich umiejscowienie anatomiczne jest zróżnicowane, często dochodzi do zajęcia skóry i/lub opon mózgowo-rdzeniowych. Zastosowanie agresywnego leczenia z uwzględnieniem powtórnej allotransplantacji komórek krwiotwórczych może u części pacjentów przynieść korzystne efekty, jednak rokowanie w przypadku IER u chorych z AML po allo-HSCT pozostaje złe. Niezbędne jest więc przeprowadzenie dalszych wieloośrodkowych badań w celu ustalenia optymalnego sposobu postępowania leczniczego u tych pacjentów

STANDARYZACJA W CYTOMETRII PRZEPŁYWOWEJ

PRZEWODNICZĄCY:

J. ROLIŃSKI (LUBLIN),
R. SMOLEWSKI (ŁÓDŹ)

Doniesienia ustne

WYKRYWALNOŚĆ KLONU NOCNEJ NAPADOWEJ HEMOGLOBINURII (PNH) PRZY UŻYCIU WYSOKOCZUŁEJ DIAGNOSTYKI CYTOMETRYCZNEJ

mgr Justyna Spychalska, mgr Anna Myślińska,
mgr inż. Edyta Klimczak-Jajor,
dr Małgorzata Uhrzynowska

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Wykrywanie komórek krwi z defektem glikozylfosfatydilinozytolu (GPI) służy do diagnostyki nocnej napadowej hemoglobinurii (PNH), bardzo rzadko występującej choroby klonalnej hematopoetycznej komórki macierzystej. Odsetek komórek GPI-ujemnych jest zróżnicowany, u niektórych chorych jest bardzo niski (< 1%), co stwarza konieczność zastosowania metod o wysokiej czułości.

Cel: Celem pracy była ocena skuteczności wykrywania komórek GPI-ujemnych u chorych: 1) z zaburzeniami szpiku kostnego związanymi z niedokrwistością aplastyczną (AA), hipoplazją, zespołem mielodysplastycznym (MDS) i niewyjaśnionymi cytopeniami, 2) wewnątrznaczyniową hemolizą z ujemnym testem Coombsa i/lub hemoglobinurią i zaburzeniami czynności nerek, 3) zakrzepicą żylną lub tętniczą o niewyjaśnionym pochodzeniu, zwłaszcza występującą w nietypowych miejscach – jama brzuszna, zatoki mózgu, naczynia skórne.

Materiał i metody: W latach 2013–2016 w naszym laboratorium w kierunku PNH przebadano 1010 osób: 155 z AA, 103 z MDS, 32 z hipoplazją szpiku, 280 z cytopeniami, 163 z hemolizą wewnątrznaczyniową, 132 z zakrzepicą oraz 145 innych (różne zaburzenia hematologiczne lub brak danych). Badania wykonano w próbkach krwi pobranej na EDTA. Komórki GPI-ujemne identyfikowano w populacji granulocytów za pomocą aerolizyny znakowanej fluorescencją (FLAER) oraz przeciwciał monoklonalnych anty-CD24/CD45/CD15 i/lub w populacji erytrocytów przeciwciałami skierowanymi do CD235a/CD59. Komórki analizowano w cytometrze przepływowym FACSCalibur, wyniki wyrażono w % komórek GPI-ujemnych. Czułość metody zależała od liczby analizowanych komórek: przy analizie 250 000 wynosiła 0,01%.

Wyniki: W grupie 1010 badanych u 171 (~17%) wykryto komórki GPI-ujemne. Defekt PNH wykry-

to u 80/155 osób z AA (52%), 12/32 z hipoplazją szpiku (38%), 17/103 z MDS (17%), 41/280 z cytopeniami (15%), 15/163 z hemolizą (9%), 2/132 z zakrzepami (2%) oraz 4/145 z innych (3%). Odsetek tych komórek wynosił < 1% u 68 chorych, w tym: 37 z AA, 20 z cytopeniami, 4 z hipoplazją szpiku, 3 z MDS. Klon PNH 1–50% wykryto u 73, w tym: 40 z AA, 15 z cytopeniami, 9 z MDS, 5 z hipoplazją, a klon > 50% u 30, w tym: 10 z hemolizą, 6 z cytopeniami, 5 z MDS.

Wnioski: Wysokoczuła diagnostyka pozwoliła na wykrycie dużej grupy chorych z subkliniczną postacią PNH, która wymaga dalszego monitorowania rozwoju klonu komórek GPI-ujemnych. Dane z naszego laboratorium potwierdzają, że w grupie podwyższonego ryzyka znajdują się chorzy z niewydolnością szpiku, zwłaszcza z AA i niewyjaśnionymi cytopeniami.

Plakaty

P1. ANALIZA ABERRANTNYCH EKSPRESJI ANTYPENÓW RÓŻNICOWANIA TKANKOWEGO (CD) W OSTRYCH BIAŁACZKACH PRZY UŻYCIU 8-KOLOROWEJ CYTOMETRII PRZEPŁYWOWEJ

mgr Adrian Burdacki, mgr Magdalena Czochara,
lek. med. Marek Dudziński

Klinika Hematologii, Kliniczny Szpital Wojewódzki nr 1 im. Fryderyka Chopina w Rzeszowie

Wstęp: Ostre białaczki są heterogenną grupą chorób układu krwiotwórczego o zróżnicowanym profilu immunofenotypowym. Zastosowanie wieloparametrowej cytometrii przepływowej pozwala na określenie typu rozrostu, co jest konieczne dla wdrożenia odpowiedniego leczenia. Wraz ze wzrostem liczby oznaczanych jednocześnie markerów rośnie liczba fenotypów aberrantnych, rozpoznawanych w przypadku braku ekspresji jednej swoistej determinanty, obecności antypenów innych linii komórkowych (koekspresja) lub pojawienia się fenotypu asynchronicznego, polegającego na równoczesnej ekspresji determinant z prekursorowego oraz dojrzałego etapu rozwoju danej komórki.

Cel: Analiza retrospektywna została wykonana w celu określenia częstości i rodzaju aberrantnych ekspresji antypenów na komórkach białaczkowych u pacjentów z ostrymi białaczkami.

Materiał i metody: Analizie poddano 78 eksperymentów cytometrycznych (AML = 48, ALL = 28, MPAL = 2) wykonanych na aspiratach szpiku kostnego pobranych do probówek morfologicznych zawierających antykoagulant EDTA. Zastosowano wieloparametrową (8-kolorową) cytometrię przepływową (BD FACSCanto II) z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych. Otrzymane dane analizowano przy użyciu oprogramowania BD FACSDiva Software.

Wyniki: Aberracje antygenowe związane z ekspresją markerów typowych dla innych linii komórkowych zidentyfikowano wśród 26/26 (100%) przypadków ALL-B oraz 25/48 (52,1%) przypadków AML. CD66 było najczęstszym markerem mieloidalnym występującym w ok. 65% przypadków ALL-B, a CD7 było najczęstszym markerem limfoidalnym występującym w ok. 21% przypadków AML. Odchylenie związane z zaburzeniami dojrzewania komórek blastycznych zaobserwowano w 5/26 (19,2%) przypadków ALL-B oraz w 44/48 (91,7%) przypadków AML.

Wnioski: Na podstawie przeprowadzonych badań dowiedziono obecności licznych aberracji antygenowych związanych z asynchronią dojrzewania oraz koekspresjami markerów swoistych dla innych linii komórkowych na komórkach białaczkowych. Wysoki odsetek aberrantnych immunofenotypów może wynikać z jednoczesnego oznaczania 8 markerów, zwiększenia ogólnej ich liczby i optymalizacji paneli przeciwciał. Identyfikacja większej liczby aberracji antygenowych może istotnie poprawić dokładność oznaczania MRD metodą cytometrii przepływowej i zwiększyć odsetek pacjentów, u których takie badanie jest możliwe do wykonania.

TRANSFUZJOLOGIA 3 – ORGANIZACJA I JAKOŚĆ W TRANSFUZJOLOGII

PRZEWODNICZĄCY:

J. ANTONIEWICZ-PAPIS (WARSZAWA),
P. RADZIOWON (BIAŁYSTOK)

Doniesienia ustne

MROŻENIE KKP W MAŁEJ OBJĘTOŚCI MIESZANINY KRIOOCHRONNEJ UPRASZCZA I PRZYSPIESZA PROCES PRZYGOTOWANIA KKP DO UŻYTKU KLINICZNEGO, NIE POGARSZAJĄC PRZY TYM JAKOŚCI PŁYTEK KRWI W PORÓWNANIU ZE STANDARDOWĄ METODĄ MROŻENIA

dr Magdalena Bujno¹, Anna Rogowska¹,
Dariusz Średziński¹, dr Alina Lipska¹,
dr Tomasz Rusak², prof. Piotr Radziwon^{1,3}

¹Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa
w Białymstoku

²Zakład Chemii Fizycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

³Klinika Hematologii z Pododdziałem Chorób Naczyń,
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Wstęp: Krótki okres przechowywania koncentratów
krwinek płytkowych (KKP) stwarza trudności z zaopa-

trzeniem w świeże KKP i konieczność korzystania z mro-
żonych KKP. Obecnie stosowana metoda rozmrażania
i odplukiwania związku kriochronnego (DMSO) jest
czasochłonna i wymaga udziału wykwalifikowanego
personelu.

Cel: Celem pracy było opracowanie metody krio-
konserwacji KKP umożliwiającej szybkie przygotowanie
KKP do użytku klinicznego i niewymagającej szczegó-
lonych kwalifikacji personelu.

Materiał i metody: Do badań użyto 40 zlewanych
koncentratów krwinek płytkowych (Zl. KKP), każdy po
5 j. KKP otrzymanych z kożuszków leukocyтарно-пłytko-
wych. 10 Zl. KKP mrożono i rozmrażano metodą stan-
dardową z użyciem DMSO oraz witaminy C (Grupa A).
Kolejne 10 Zl. KKP zawieszano w osoczu z dodatkiem
DMSO, wirowano w celu usunięcia nadsącza i zamra-
żano pozostały osad. Po rozmrożeniu osad zawieszano
w osoczu (Grupa B). W Grupie C Zl. KKP zawieszano
i zamrażano tak samo jak w grupie B, a po rozmrożeniu
resuspendowano w roztworze wzbogacającym (SSP+).
Grupę D stanowiło 10 Zl. KKP zawieszanych przed od-
wirowaniem i mrożeniem w mieszaninie DMSO i SSP+
a po rozmrożeniu resuspendowanych w SSP+. Zamrozo-
ne Zl. KKP wszystkich grup przechowywano w tempera-
tuez –80°C przez 7 dni. Jakość Zl. KKP oceniano w opar-
ciu o badania: liczby i morfologii płytek krwi, ekspresji
antygenów CD62P, CD42a, CD63, ilości mikrocząstek
pochodzenia płytkowego, agregacji płytek krwi i trombo-
elastografii.

Wyniki i wnioski: Stwierdzono wzrost ekspresji
CD62P i CD63 oraz zmniejszenie liczby płytek krwi we
wszystkich badanych grupach po rozmrożeniu Zl. KKP.
Liczba płytek krwi była po rozmrożeniu nieznacznie
większa w grupach B, C w porównaniu z grupami A i D.
Spadek agregacji płytek krwi po rozmrożeniu Zl. KKP był
mniejszy w grupie A w porównaniu z pozostałymi gru-
pami. Agregacja w grupie B była wyższa niż w grupach
C i D. W grupach C i D zaobserwowano po rozmroże-
niu wzrost ilości mikrocząstek pochodzenia płytkowe-
go w porównaniu z ilością stwierdzaną przed zamro-
żeniem. Zmiany zaobserwowane w tromboelastografii
nie różniły się istotnie pomiędzy grupami. Mrożenie
osadu Zl. KKP zawieszonego w osoczu z dodatkiem
DMSO, a po rozmrożeniu resuspendowanie tego osadu
w osoczu pozwala na uzyskanie rozmrożonego Zl. KKP
o jakości porównywalnej do składnika otrzymanego
według standardowej metody. Nowa metoda kriokon-
serwacji KKP znacznie upraszcza i przyspiesza przygoto-
wanie rozmrożonego Zl. KKP do przetoczenia i powin-
na znaleźć się wśród rutynowych metod preparatyki
składników krwi.

POWRÓT DO ODDAWANIA KRWI PO NIEDOKRWISTOŚCI

dr Małgorzata Szymczyk-Nużka

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa
im. prof. dr hab. Tadeusza Dorobisza we Wrocławiu

Wstęp: Krwiodawcy wielokrotni narażeni są na niedobór żelaza w związku z utratą ok. 200 mg tego pierwiastka podczas donacji krwi pełnej. Wyczerpanie rezerw żelaza może doprowadzać do niedokrwistości, co powoduje odroczenie krwiodawcy i stratę kolejnych donacji. Podanie preparatu żelaza pomaga wyrównać niedobory żelaza i zapobiegać niedokrwistości dyskwalifikującej do oddawania krwi.

Cel: Ocena przydatności suplementacji preparatem żelaza u wielokrotnych dawców krwi zdyskwalifikowanych z powodu niedokrwistości do powrotu do oddawania krwi.

Materiał i metody: Analizowano grupę krwiodawców wielokrotnych, którzy zostali zdyskwalifikowani z powodu niedokrwistości, tj. Hb < 13,5 g/dl u mężczyzn, Hb < 12,5 g/dl u kobiet, i otrzymali doustny preparat żelaza w celu uzupełnienia niedoboru tego pierwiastka. Grupę badaną stanowiło 17 kobiet od 19. do 57. roku życia (średnia wieku – 31 lat) oraz 54 mężczyzn od 19. do 61. roku życia (średnia wieku – 36 lat). Oceniano przez okres 2,5 roku powrót do prawidłowych wartości hemoglobiny i liczbę kolejnych donacji krwi pełnej.

Wyniki: Krwiodawcy płci męskiej byli dyskwalifikowani z powodu niedokrwistości przy średniej wartości Hb – 12,82 g/dl (od 11,4 do 13,4 g/dl); kobiety – 11,6 g/dl (od 10,2 do 12,4 g/dl). Po włączeniu preparatu żelaza wzrost hemoglobiny do wartości kwalifikującej do oddawania krwi (12,5 g/dl) wykazano u 13 kobiet (76,5%); średni wzrost Hb wynosił 1,94 g/dl. W grupie mężczyzn wartość hemoglobiny kwalifikującej (13,5 g/dl) uzyskano u 51 osób (94,4%); średni wzrost Hb wynosił 1,76 g/dl. Powrót do prawidłowych wartości hemoglobiny trwał średnio 74 dni u kobiet oraz 59 dni u mężczyzn. Po przywróceniu do oddawania krwi kobiety oddawały od 2 do 7 donacji krwi pełnej (średnio 4 jednostki KPK), a mężczyźni od 1 do 12 donacji krwi pełnej (średnio 4,6 jednostek KPK). Spadek Hb nastąpił ponownie u 7 kobiet po średnio 3,5 donacjach KPK, z tego 3 dawczynie dostały ponownie preparat żelaza. W grupie mężczyzn u 21 dawców stwierdzono ponowny spadek Hb średnio po 3,1 donacjach, a 8 krwiodawców dostało ponownie preparat żelaza.

Wnioski: Włączenie preparatów żelaza przy niedokrwistości występującej u dawców wielokrotnych pozwala na kolejne donacje krwi pełnej, co jest ważne zarówno dla krwiodawcy, jak i dostępności tego składnika krwi od regularnych krwiodawców. Wzrost stężenia hemoglobiny do wartości kwalifikującej pozwala na oddanie średnio 4 jednostek krwi pełnej, ale część krwiodawców wymaga kolejnego podania preparatu żelaza po ok. 3 donacjach krwi pełnej.

Plakaty

P1. RÓŻNICA WARTOŚCI STĘŻENIA HEMOGLOBINY OZNACZANEJ WE KRWI WŁOŚNICZKOWEJ I KRWI ŻYLNEJ

mgr Barbara Strażnikiewicz, mgr Sylwia Czajka,
lek. med. Aleksandra Biernacka-Bartnik

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Opolu

Wstęp: Badaniem kwalifikującym do oddania krwi lub jej składników jest stężenie hemoglobiny Hb oznaczanej w krwi włosniczkowej za pomocą hemoglobinometru lub oznaczanej w krwi żyłnej z użyciem analizatora hematologicznego. Stężenie Hb kwalifikujące dawcę do oddania krwi wynosi 12,5 g/dl dla kobiet i 13,5 g/dl dla mężczyzn.

Cel: Celem pracy było porównanie oznaczeń stężenia Hb z krwi włosniczkowej i krwi żyłnej u dawców krwi.

Materiał i metody: Badania przeprowadzono w okresie od 01.06.2016 r. do 30.04.2017 r. u 1211 dawców krwi z 1571 dawców krwi, których wartości Hb z krwi włosniczkowej były niższe od 12,5 g/dl u kobiet i 13,5 g/dl u mężczyzn. Badania wykonano za pomocą hemoglobinometru z zastosowaniem metody fotometrycznej z użyciem jednorazowych kuwet, a następnie oznaczono wartość Hb w krwi żyłnej przy pomocy analizatora hematologicznego z zastosowaniem cytometrii przepływowej. Analizę wyników przeprowadzono w podziale na miejsce poboru próbek (siedziba centrum, terenowe oddziały, ekipy wyjazdowe).

Wyniki: Z powodu niskiej Hb w analizowanym okresie nie pobrano krwi od 1571 dawców, natomiast 1211 dawców objętych badaniem stanowiło 77% wszystkich zdyskwalifikowanych dawców z powodu niskiej Hb. W próbkach pochodzących z różnych miejsc ich poboru średnia różnica otrzymanych wyników w wartościach bezwzględnych między oznaczeniami próbek pochodzących z krwi włosniczkowej i krwi żyłnej wyniosła 0,29 g/dl wartości Hb: w siedzibie centrum 0,39 g/dl, w ekipach wyjazdowych 0,25 g/dl, w oddziałach terenowych 0,26 g/dl. Różnice w oznaczeniach Hb mieszczące się w przedziale od 0–0,5 g/dl Hb stanowiły 92,4% wszystkich porównań, dla przedziału od 0,51–1,0 g/dl Hb – 6,6% i dla przedziału > 1 g/dl Hb – 1,0%.

Wnioski: Wartości stężenia Hb oznaczone w krwi żyłnej i krwi włosniczkowej nie wykazują istotnych różnic. Na wynik badania duży wpływ ma prawidłowe pobranie próbki, zwłaszcza krwi włosniczkowej (swoobodny wypływ krwi) oraz prawidłowe wypełnienie kuwety. Dlatego też niezbędne jest zachowanie podczas procedury pobrania i wykonania oznaczenia należytej staranności. Dzięki temu możemy uzyskać wyniki porównywalne mimo zastosowania różnej metodyki oznaczeń. Szczególnej uwagi wymagają wartości zbliżone do wartości granicznych u dawców, u których

oznaczenie Hb z krwi żyłnej może zmienić status dawcy, jakkolwiek ostateczna decyzja należy do lekarza kwalifikującego.

P2. ZASADNICZE CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA ZMIENNOŚĆ STANU ZASOBÓW SKŁADNIKÓW KRWI NA TERENIE POLSKI

**dr Aleksandra Rosiek, mgr Anna Tomaszewska,
dr Elżbieta Lachert, dr Jolanta Antoniewicz-Papis,
prof. Ryszard Pogłód, prof. Magdalena Łętowska**

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Składniki krwi należą wciąż do najczęściej stosowanych środków leczniczych. W praktyce klinicznej najczęściej wykorzystuje się koncentrat krwinek czerwonych (KKCz), znacznie rzadziej osocze świeżo mrożone (FFP) i inne składniki krwi. Stan zasobów składników krwi cechuje się zmiennością wynikającą z szeregu czynników związanych z bieżącą działalnością jednostek organizacyjnych publicznej służby krwi i podmiotów leczniczych.

Cel: Celem pracy była analiza stanu zasobów KKCz i FFP na terenie Polski w latach 2014–2016, przy uwzględnieniu przede wszystkim takich czynników, jak ich zmienność sezonowa i różnicowanie obserwowane w poszczególnych regionach kraju.

Materiał i metody: Dla oszacowania czynników wpływających na zmienność stanu zasobów przeprowadzono analizę danych otrzymanych z Regionalnych Centrów Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK).

Wyniki: W skali całego kraju dzienny stan zasobów KKCz wszystkich grup układu ABO w kolejnych miesiącach lat 2014–2016 przyjmował wartości umożliwiające pokrycie zapotrzebowania w 2014 r. średnio przez 5,91 dnia, w 2015 r. – 5,78 i w 2016 r. – 5,43. Najniższy średni stan zasobów KKCz odnotowano w sierpniu 2016 r. (3,34 dnia), a najwyższy – w marcu 2014 r. (9,43). Zmienność zasobów KKCz wykazywała charakter sezonowy: na początku kolejnych lat wystarczała w skali całego kraju na 5,57–6,28 dni, w miesiącach wiosennych zasoby były najwyższe w danym roku (7,07–9,43); wartości najniższe występowały w miesiącach letnich (3,34–4,38); w miesiącach jesiennych stany zasobów przybierały wartości niskie i średnie; w grudniu następował ich wzrost (5,12–7,25). Najniższe średnie stany zasobów występowały w centrach zaopatrujących najwięcej szpitali i wydających rocznie najwięcej jednostek KKCz (w Warszawie i Katowicach). W praktyce klinicznej FFP wykorzystywano jedynie ok. 25% pobranego osocza. Nie obserwowano sezonowej zmienności zasobów FFP ani znaczącego geograficznego różnicowania zużycia.

Wnioski: Na stan zasobów KKCz wpływa szereg okoliczności związanych m.in. z liczbą donacji krwi

(charakterystyczne wahania sezonowe) i wielkością zużycia KKCz (wartość uzależniona w znacznej mierze od liczby zaopatrywanych przez dane centrum szpitali). Gromadzenie FFP w ilościach dostatecznych do celów klinicznych nie stanowi zazwyczaj problemu. Opisane obserwacje mogą wskazywać na potrzebę racjonalizacji gospodarki krwią i jej składnikami i przez to lepsze wykorzystanie realnie istniejących zasobów.

P3. PODSUMOWANIE PROCEDURY „KANDYDAT NA DAWCĘ KRWI” W RCKiK WE WROCŁAWIU

mgr Marta Stanek, dr Małgorzata Szymczyk-Nużka

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa we Wrocławiu

Wstęp: Wprowadzenie pilotażowej procedury „kandydat na dawcę krwi” miało za cel budowanie świadomości dawców, wzrost liczby dawców regularnych, zwiększenie bezpieczeństwa pobieranej krwi i jej składników.

Cel: Analiza statystyczna i określenie częstości dodatków i wymagających weryfikacji wyników czynników zakaźnych w grupie kandydatów na dawców krwi.

Materiał i metody: W czasie trwania pilotażowego programu „kandydat na dawcę krwi” analizowano kwalifikację 606 osób. Etapy procedury: rejestracja – kwalifikacja lekarska, badania kwalifikacyjne, w tym na obecność czynników zakaźnych – zaproszenie do oddania krwi po 18–50 dniach.

Wyniki i wnioski: Do procedury zakwalifikowano 606 kandydatów, w tym 339 kobiet i 267 mężczyzn. Przedział wiekowy osób: ≤ 20. roku życia – 464; 21.–30. roku życia – 78; 31.–40. roku życia – 29; 41.–50. roku życia – 17; 51.–60. roku życia – 16; ≥ 61. roku życia – 2. W trybie stacjonarnym zakwalifikowano 285, a na ekipach wyjazdowych 321 osób. Wśród zakwalifikowanych kandydatów uzyskano 5 wyników powtarzalnie reaktywnych anty-HCV (Vitros 3600 anty-HCV), które zostały poddane weryfikacji (test recomLine HCV IgG i Procleix Ultrio Elite) – 1 wynik został potwierdzony. Otrzymano 1 wynik powtarzalnie reaktywny anty-*Treponema pallidum* (Vitros 3600 Syphilis TPA), potwierdzony w TPHA, FTA, FTA-Abs. Z przebadanych kandydatów na zaproszenie do oddania krwi odpowiedziały 243 osoby (40%), w tym 164 stacjonarnie i 79 na ekipach wyjazdowych. Dawcy zgłaszali się w trybie: 2 osoby przed 18. dniem, 168 między 18. a 50. dniem i 243 po 50. dniach. Kandydaci oddali 195 donacji. Kolejny raz do oddania zgłosiło się 84 dawców, którzy oddali 64 donacji. Wśród kandydatów przeważały kobiety i osoby do 20. roku życia. Na zaproszenie do oddania krwi odpowiedziało 40% osób, ale tylko 28% w pożądanym okresie między 18. a 50. dniem po kwalifikacji. Kandy-

daci częściej rejestrowani byli na ekipach wyjazdowych (52%), a aż 68% ponownych wizyt odbyło się w trybie stacjonarnym. Oddali w sumie 259 donacji, a 14% zostało do chwili przeprowadzonej analizy dawcami wielokrotnymi. Dzięki procedurze wykryto u 2 osób dodatkowe wyniki w kierunku obecności czynników zakaźnych, a u 4 wyniki wymagające weryfikacji, więc uniknięto kosztów 6 utylizacji krwi. Procedura kandydata na dawcę krwi zwiększa bezpieczeństwo krwi, ale dawcy nie zawsze zgłaszają się w trybie zmniejszającym ryzyko transfuzji w okienku diagnostycznym.

P4. AUTOMATYZACJA PROCESU ROZDZIAŁU KRWI PEŁNEJ NA PRASACH MACOPRESS SMART ORAZ OCENA PARAMETRÓW JAKOŚCI SKŁADNIKÓW KRWI PRZY ZASTOSOWANIU RÓŻNEGO TYPU ZESTAWÓW DO POBORU KRWI PEŁNEJ

mgr Wioletta Gałuszka, mgr Alicja Szulakowska, dr Małgorzata Szymczyk-Nużka

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa im. prof. dr hab. Tadeusza Dorobisza we Wrocławiu

Wstęp: Krew pełna konserwowana (KPK) pobrana do różnego typu zestawów, odwirowana i rozdzielona na składniki krwi, które powinny spełniać wymogi kontroli jakości.

Cel: Zbadanie osocza (FFP), koncentratu krwinek czerwonych (KKCz), kożuszka leukocytno-płytkowego z KPK pobranej do zestawów „potrójnych” Triple Bags T/B oraz porównanie czasu filtracji, parametrów kontroli jakości w ubogoleukocytarnym koncentracie krwinek czerwonych (UKKCz) przy zastosowaniu zestawów „poczwórnych”: Leucoflex LCR-D, Composelect® 4F T&B i Imuflex CRC.

Materiał i metody: Przebadano 125 jednostek otrzymanych składników krwi w zestawach „potrójnych” oraz porównywalną ilość UKKCz w zestawach „poczwórnych” zgodnie z obowiązującymi przepisami. We wszystkich uzyskanych składnikach oznaczono liczbę leukocytów (WBC) na cytometrze przepływowym BD FACS Calibur lub mikroskopie Olympus CX 31, stężenie hemoglobiny (Hb), hematokryt (Ht), liczbę krwinek płytkowych (PLT) i liczbę krwinek czerwonych (RBC) na analizatorze hematologicznym Micros 60 ABX Horiba.

Wyniki i wnioski: 1. W zestawach „potrójnych” uzyskano: KKCz: WBC: $0,7 \pm 0,3 \times 10^9/\text{jednostkę}$, Ht: $0,60 \pm 0,02$ (norma: 0,50–0,70), Hb: $55 \pm 4 \text{ g/jednostkę}$ (norma: $\geq 40 \text{ g/jednostkę}$), objętość: $284 \pm 12 \text{ ml}$ (norma: 256–312 ml); FFP: WBC: $0,02 \pm 0,01$ (norma: $< 0,1 \times 10^9/\text{L}$), RBC: $0,68 \pm 0,33 \times 10^9/\text{L}$ (norma: $< 6 \times 10^9/\text{L}$), PLT: $12 \pm 3 \times 10^9/\text{L}$ (norma: $< 50 \times 10^9/\text{L}$), objętość: $270 \pm 4 \text{ ml}$ (norma: 243–297 ml); kożuszek leukocytno-płytkowy:

Ht: $0,44 \pm 0,06$ (norma: 0,39–0,49), waga: $55 \pm 1 \text{ g}$ (norma: 50–60 g). 2. W uzyskanych UKKCz objętość, Hb oraz Ht były porównywalne. WBC była poniżej 1×10^6 leukocytów/jednostkę, przy czym dla zestawów Composelect® 4F T&B – 78% składników spełniało wymogi kontroli jakości, a dla Leucoflex® LCR-D i Imuflex CRC spełniało odpowiednio 94% i 92%. Czas filtracji KKCz wynosił 19 minut dla zestawów Composelect® 4F T&B, 21 minut dla zestawów Leucoflex® LCR-D oraz 31 minut dla zestawów Imuflex CRC. 3. Uzyskane wyniki badań kontroli jakości otrzymanych składników krwi spełniają obowiązujące normy. 4. Najkrótszy czas filtracji KKCz jest w zastosowaniu Composelect® 4F T&B. 5. W Imuflex CRC największy odsetek UKKCz spełniał wymóg ubogoleukocytności. 6. Dostosowanie ustawień prasy do używanych zestawów. 7. Uniwersalność prasy dla różnego typu zestawów do poboru krwi. 8. Obecność w prasach automatycznych łamaczy membran, dedykowanych do wszystkich typów zestawów. 9. Mieszanie KKCz podczas separacji KPK przy użyciu wagiomieszarki obecnej w prasach. 10. Transmisja wag wszystkich otrzymanych składników krwi.

OSTRE BIAŁACZKI LIMFOBLASTYCZNE

PRZEWONICZĄCY: A. CZYŻ (POZNAŃ),
S. GIEBEL (GLIWICE)

Doniesienia ustne

OCENA AKTYWNOŚCI I EKSPRESJI KINAZY MTOR W BLASTACH ORAZ JEJ WPŁYWU NA PRZEBIEG KLINICZNY OSTREJ BIAŁACZKI LIMFOBLASTYCZNEJ B-KOMÓRKOWEJ U DZIECI

lek. Edyta Ulińska¹, dr Katarzyna Mycko¹, dr Elżbieta Sałacińska-Łoś², dr Agata Pastorczak¹, prof. dr hab. Wojciech Młynarski¹, prof. dr hab. Michał Matysiak³

¹Klinika Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Zakład Diagnostyki Patomorfologicznej, Szpital Kliniczny Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

³Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Pomimo ogromnego postępu w leczeniu ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) wciąż istotnym problemem pozostają wznowy choroby oraz wczesne i późne powikłania stosowanej terapii. Potrzebą chwili stała się modyfikacja aktualnej stratyfikacji chorych do poszczególnych grup ryzyka. Ma w tym pomóc próba wyodrębnienia molekularnych markerów niekorzystnego rokowania. Wydaje się także, że ich identyfikacja

może przyczynić się do wprowadzenia leczenia celownego, zwiększając skuteczność terapii przy jednoczesnej redukcji jej toksyczności.

Cel: Celem pracy była ocena aktywności i ekspresji kinazy mTOR w blastach dzieci z B-komórkową ALL oraz jej wpływu na przebieg kliniczny choroby. Dokonano także porównania ekspresji i aktywności mTOR w komórkach nowotworowych przy pierwszym rozpoznaniu i we wznowie ALL.

Materiał i metody: Analizie poddano grupę 68 pacjentów w wieku 1–18 lat: 48 kolejnych chorych, z rozpoznaniem ALL postawionym w latach 2009–2011, pozostających w pierwszej remisji choroby oraz 20 pacjentów ze wznową, u których pierwsze zachorowanie wystąpiło w latach 2009–2013. Pacjenci byli leczeni zgodnie z obowiązującym protokołem w Katedrze i Klinice Pediatrii Hematologii i Onkologii WUM oraz Klinice Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Za pomocą metody immunocytochemicznej przy użyciu swoistych króliczych przeciwciał monoklonalnych poddano ocenie ekspresję wybranych białek szlaku PI3K/mTOR: mTOR, p-mTOR oraz p-S6rp. Barwienia immunocytochemiczne zostały wykonane na preparatach rozmazowych szpiku kostnego uzyskanych od pacjentów w dniu rozpoznania przy pierwszym zachorowaniu lub we wznowie.

Wyniki: Wykazano, że aktywność mTOR koreluje istotnie z ryzykiem nawrotu ALL oraz jest wyższa we wznowie niż przy pierwszym rozpoznaniu białaczki. Nie potwierdzono statystycznie istotnego związku pomiędzy aktywnością białka mTOR a innymi uznanymi czynnikami niekorzystnego rokowania.

Wnioski: Aktywność mTOR w blastach B-komórkowej ALL u dzieci może stanowić niezależny czynnik złego rokowania. Jej rutynowa ocena mogłaby stanowić podstawę do wyodrębnienia pacjentów mogących potencjalnie odnieść korzyść z terapii inhibitorami kinazy mTOR.

Introduction: Clinical, genetic and immunophenotypic heterogeneity of T-cell acute lymphoblastic leukemia and insufficient understanding of its pathogenesis hampers further improvement in stratification and treatment strategies. MiRNAs are important regulators of gene expression. Aberrantly expressed miRNAs serve as oncogenes or tumor suppressors (by silencing tumor suppressor genes and oncogenes, respectively). The profile of miRNA expression in pediatric T-ALL remains to be elucidated. Next-generation sequencing (NGS) enables the identification of the entire repertoire of expressed miRNAs, including novel candidate oncogenic/tumor suppressor miRNAs. NGS miRNA-seq might aid the understanding of T-ALL heterogeneity and pathogenesis.

Aim: To identify miRNA expression profile in pediatric T-ALL, with the focus on T-ALL heterogeneity. To identify miRNAs implicated in T-ALL pathobiology (potential oncogenic/tumor suppressor miRNAs). To assess classification and prognostic potential of miRNAs profiling.

Material and methods: Total RNA isolated from immunomagnetically selected CD3+ cells of 34 pediatric T-ALL patients and 6 healthy bone marrow donors. miRNA sequencing (NextSeq500 Illumina, 10mln reads/sample, 51bp single-end; NGS Service Exiqon).

Results and conclusions: We showed that miRNA expression profile is discriminative between pediatric T-ALL and healthy bone marrow controls. We identified 25 miRNAs overexpressed in T-ALL vs. controls (known and potential novel oncogenic miRNAs, including: miR-20b-5p, miR-363-3p, miR-128-3p, miR-181b-5p, miR-130b-3p) and 41 underexpressed miRNAs (known/novel tumor suppressor miRNAs: miR-145-5p, miR-143-3p, miR-27a-5p, miR-24-3p, miR-199a-3p). We also showed that miRNA expression profile is discriminative between immunophenotypic subtypes of T-ALL (EGIL stages: II, III, IV) by differential expression of 104 miRNAs.

Conclusions: With use of NGS miRNA-seq, we provide insights into the heterogeneity of pediatric T-ALL at the miRNA transcriptome level. Expression profiles of miRNAs differentially expressed in patients vs. controls and in T-ALL immunophenotypic subtypes (EGIL: II, III, IV) hold potential for improved classification of T-ALL. Individual differentially expressed miRNAs are candidates for functional test to assess their oncogenic/tumor suppressor role in T-ALL and for association analysis (survival & treatment response) to assess their prognostic potential in T-ALL.

National Science Centre, Poland grant number: 2014/15/B/NZ2/03394.

NEXT-GENERATION SEQUENCING OF MIRNA TRANSCRIPTOME IN PEDIATRIC T-CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA: FOCUS ON T-ALL PATHOGENESIS AND HETEROGENEITY

dr Małgorzata Dawidowska¹,
mgr Bronisława Szarzyńska-Zawadzka¹,
dr Roman Jaksik², mgr Monika Drobna¹,
mgr Maria Kosmalska¹, dr Łukasz Sędek³,
dr Monika Lejman⁴, prof. Tomasz Szczepański³,
prof. Michał Witt¹

¹Instytut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu

²Wydział Automatyki, Politechnika Śląska w Gliwicach

³Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁴Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Lublinie

POLIMORFIZM GENU GATA3 JEST ZWIĄZANY Z DELECCJĄ SOMATYCZNĄ W REGIONIE PAR1 I PRZEBIEGIEM KLINICZNYM OSTREJ BIAŁACZKI LIMFOBLASTYCZNEJ Z PREKURSOROWYCH KOMÓREK B (BCP-ALL)

mgr Joanna Madzio¹, dr Agata Pastorczak¹,
lek. Marcin Braun², dr Joanna Taha¹,
mgr Kamila Wypyszcak¹, dr Joanna Trelińska¹,
dr Monika Lejman³, dr Beata Zalewska-Szewczyk¹,
dr Bernarda Kazanowska⁴, dr Nina Irga-Jaworska⁵,
dr Katarzyna Derwich⁶, lek. Edyta Ulińska⁷,
prof. Michał Matysiak⁷, prof. Jerzy Kowalczyk³,
dr Wanda Badowska⁴, prof. Jan Styczyński⁸,
prof. Tomasz Szczepański⁹, prof. Wojciech Młynarski¹

¹Klinika Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Zakład Patologii, Katedra Onkologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

³Klinika Hematologii, Onkologii i Transplantologii Dziecięcej II Katedry Pediatrii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁴Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej w Olsztynie

⁵Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

⁶Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej II Katedry Pediatrii, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

⁷Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁸Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Uniwersytet w Bydgoszczy

⁹Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii Dziecięcej, Śląski Uniwersytet Medyczny, Zabrze

Wstęp: Wariant germinalny rs3824662 genu GATA3 został opisany jako związany z podtypem Ph-like BCP-ALL oraz odpowiedzią na leczenie i ryzykiem wznowy białaczki u dzieci leczonych amerykańskimi protokołami Children's Oncology Group.

Cel: Badanie ma na celu ocenę związku polimorfizmu GATA3 z przebiegiem choroby, fenotypem białaczki i odpowiedzią na leczenie u pacjentów leczonych według protokołów grupy BFM.

Materiał i metody: Do badania włączono 645 dzieci leczonych wg protokołu ALL IC-BFM 2009 oraz 216 wg protokołu ALL IC-BFM 2002, mediana wieku wynosiła 4,58 roku (IQR: 2,87–8,16). Genotyp rs3824662 oznaczono przy użyciu sond TaqMan. Obecność mikrodelecji w wybranych genach oznaczono za pomocą zestawu P335-B2 SALSA MLPA. Poziom minimalnej choroby resztkowej (MRD) został oznaczony w 15. i 33. dobie leczenia z wykorzystaniem 8-kolorowej cytometrii przepływowej.

Wyniki i wnioski: W grupie chorych leczonych wg ALL IC-BFM 2009, w porównaniu z protokołem ALL IC-BFM 2002, o 12,5% więcej pacjentów zostało zakwalifikowanych do grupy pośredniego ryzyka i ok. 3%

więcej do grupy wysokiego ryzyka. Przyczyniło się to do uzyskania 5-letniego OS u pacjentów leczonych wg ALL IC-BFM 2009 na poziomie 93,2% w porównaniu z 87,2% – ALL IC-BFM 2002. Rozkład genotypów locus rs3824662 w badanej grupie był następujący: AA: $n = 44$ (5%); CA: $n = 274$ (32%); CC: $n = 543$ (63%). Nosiciele wariantu AA mieli wyższy poziom MRD w 33. dobie w porównaniu z pozostałymi pacjentami (U M-W, $p = 0,048$). Nosiciele wariantu AA mieli również niższe prawdopodobieństwo przeżycia całkowitego w porównaniu z pozostałymi chorymi, $p = 0,021$; OR (95% CI) = 2,95 (1,24–7,05). 10-letnie przeżycie wśród pacjentów z wariantem AA w analizowanej kohorcie wynosiło 40,2% w porównaniu z 88,9% dla chorych z wariantami CA oraz CC. Wariant polimorficzny w rs3824662 był związany z delecjami w regionie PAR1, które występowały częściej u pacjentów z genotypem AA (24%) w porównaniu z pozostałymi chorymi (12%), $p = 0,027$; OR (95% CI) = 2,27 (1,08–4,79). U pacjentów z genotypem AA częściej występowała nadekspresja receptora CRLF2, $p = 0,44$; OR (95% CI) = 2,75 (1,02–7,44). Po raz pierwszy wykazano związek genotypu AA z krótszym przeżyciem pacjentów oraz gorszą odpowiedzią na leczenie, mierzoną poziomem MRD w 33. dobie w protokołach opartych na założeniach BFM. W genomie limfoblastów białaczkowych nosiciele genotypu AA częściej obserwowano mikrodelecje w regionie PAR1, co skutkowało w wielu przypadkach nadekspresją CRLF2 i może być biomarkerem podtypu białaczki Ph-like.

Introduction: Germline variant at rs3824662 in GATA3 gene was described as associated with Ph-like BCP-ALL subtype and response to treatment as well as risk of leukemia relapse in children treated with American Children's Oncology Group protocols.

Aim: The study aimed to evaluate an association between GATA3 polymorphism and course of leukemia as well as response to treatment in patients treated with the BFM backbone protocols.

Material and methods: The study group includes 645 patients treated according to ALL IC-BFM 2009 protocol and 216 subjects treated with ALL IC-BFM 2002 protocol, median age was 4.58 years (IQR: 2.87-8.16). Genotype rs3824662 was determined using TaqMan probes. The presence of microdeletions in selected genes was determined with SALSA MLPA P335-B2 kit. MRD at day 15 and 33 was measured by flow cytometry with EuroFlow 8-color antibody panels.

Results and conclusions: Patients treated with ALL IC-BFM 2009 protocol were stratified more often to the IR and HR group, 12.5% more patients were assigned to the intermediate risk group and 3% more to the high-risk group. This shift contributed to the better clinical outcome in ALL IC-BFM 2009 patients who achieved 5-years OS of 93.2%, compared to 87.2% in ALL-IC BFM 2002. GATA3 genotypes (rs3824662) distribution in study group was as follow: AA: $n = 44$ (5%);

CA: $n = 274$ (32%); CC: $n = 543$ (63%). AA carriers had higher level of MRD [%] at day 33 compared to CC+CA patients (U M-W: $p = 0.048$). Patients with AA variant also had lower probability of overall survival compared to CC+CA carriers ($p = 0.021$; OR (95%CI) = 2.95 (1.24-7.05). In AA carriers 10-years OS was at the level of 40.2% compared to 88.9% in CA plus CC patients. The polymorphic variant in rs3824662 was associated with PAR1 deletions, which occurred more frequently in AA carriers (24%) as compared to CC and CA group (12%), $p = 0.027$; OR (95% CI) = 2.27 (1.08-4.79). Patients with AA genotype were more likely to overexpress the CRLF2 receptor, $p = 0.44$; (95% CI) = 2.75 (1.02-7.44). It has been shown for the first time in BFM-based protocols, the AA genotype association with shorter patient survival and poor response to treatment, measured as MRD level at day 33. In the genome of leukemia lymphoblasts of AA carriers were more frequently observed microdeletions in the PAR1 region, which results in CRLF2 overexpression and could be a biomarker of the Ph-like leukemia subtype.

Plakaty

P1. BLINATUMOMAB W LECZENIU OPORNEJ ALL U DZIECI

dr n. med. Katarzyna Pawelec,
lek. med. Elżbieta Stańczak,
prof. dr hab. med. Michał Matysiak

Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Blinatumomab jest bispecyficznym przeciwciałem wykorzystującym limfocyty T, które wiąże się swoicie z cząsteczką CD19 ulegającą ekspresji na powierzchni komórek wywodzących się z linii B oraz z cząsteczką CD3 ulegającą ekspresji na powierzchni limfocytów T. Lek ten jest stosowany w leczeniu nawrotu oraz odpornej na leczenie białaczki limfoblastycznej z linii B. Niestety leczenie blinatumomabem wiąże się z występowaniem nawet ciężkich powikłań, w tym: zakażenia, powikłania neurologiczne, zespół uwalniania cytokin czy zespół rozpadu guza.

Cel: Przedstawiamy zastosowanie blinatumomabu u dwóch pacjentek z kolejnym, mimo przeszczepienia komórek hematopoetycznych, nawrotem ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL).

Materiał i metody: Pacjentka 1: U dziewczynki dwuletniej z ALL po dwóch transplantacjach komórek hematopoetycznych od dawcy niespokrewnionego rozpoznano III wznówę mieszaną, mózgowo-szpikową w 60. dobie po II transplantacji. Ze względu na dotychczasową oporność ALL rozpoczęto u niej leczenie wg IntRe ALL 2010 dla grupy wysokiego ryzyka (HR) z bortezomidem. Z uwagi na oporność ALL zdecydowano o podaniu immunoterapii. Mimo obecności infekcji oraz ciężkiego stanu ogólnego dziecka rozpoczęto po-

danie blinatumomabu w dawce $15 \mu\text{g}/\text{m}^2$ p.c./24 godziny we wlewie ciągłym przez 28 dni. Leczenie dziewczynka znosiła dobrze, poza początkowo obserwowanymi nudnościami i nadciśnieniem tętniczym opartym na lekach. W kontrolnym badaniu szpiku po zakończeniu wlewu leku stwierdzono remisję choroby. U drugiej dziewczynki w wieku 7 lat i 10 miesięcy II izolowaną wznówę szpikową ALL rozpoznano po 20 miesiącach od przeszczepienia komórek hematopoetycznych szpiku od zgodnego dawcy rodzinnego. Zastosowano u niej protokół IntReALL dla grupy HR oraz dodatkowo kłofarabinę przez 5 dni, nie osiągając remisji. Zdecydowano więc o podaniu blinatumomabu ($15 \mu\text{g}/\text{m}^2$ p.c./24 godziny we wlewie ciągłym przez 28 dni). Poza gorączką w dwóch pierwszych dniach leczenia nie obserwowano objawów ubocznych. Po zakończeniu leczenia stwierdzono pełną remisję ALL. Po uzyskaniu remisji u dziewczynek wykonano transplantację od dawców haploidentycznych. Obie są obecnie w pełnej remisji choroby (22 i 16 miesięcy).

Wyniki i wnioski: Blinatumomab jest wartą rozważenia opcją terapeutyczną u dzieci nieodpowiadających na standardowe leczenie wznowy ALL.

P2. WPŁYW RÓWNOWAGI PROTEAZY–ANTYPROTEAZY NA SKUTECZNOŚĆ TERAPII Z ZASTOSOWANIEM L-ASPARAGINAZY

lek. Justyna Walenciak¹, dr n. med. Krystyna Wyka²,
mgr Ewa Polakowska², prof. Wojciech Młynarski¹,
dr hab. Beata Zalewska-Szewczyk¹

¹Klinika Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii,
I Katedra Pediatrii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Pracownia Immunopatologii i Genetyki, I Katedra Pediatrii,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Wstęp: Osiągnięta w ostatnich latach znacząca poprawa wyników leczenia ALL u dzieci wynika m.in. z intensyfikacji terapii z zastosowaniem L-asparaginazy (L-asp). Istnieje wiele czynników wpływających na aktywność L-asp, najlepiej poznany jest mechanizm immunologiczny prowadzący do powstania przeciwciał inaktywujących lek. Najmniej poznany aspektem jest enzymatyczna degradacja leku pod wpływem lizosomalnych proteaz cysteinowych.

Cel: Ocena równowagi proteazy–antyproteazy w trakcie terapii z zastosowaniem L-asp oraz jej wpływu na aktywność leku.

Materiał i metody: Badanie prowadzono u dzieci w trakcie indukcji remisji ostrej białaczki limfoblastycznej. W badanej grupie oznaczano stężenie endopeptydazy asparaginylowej (AEP), prokatepsyny B (proCTSB), katepsyny B (CTSB) oraz ich głównego inhibitora – cystatyny C (CysC), przed i po zakończeniu po-

daży L-asp w I Protokole według Programu ALL-IC BFM 2002/2009. Stężenia ww. enzymów oznaczono metodą spektrofotometryczną. Przed podażą każdej dawki leku oznaczano aktywność L-asparaginazy metodą spektrofotometryczną. Cichą inaktywację definiowano jako kolejne co najmniej dwukrotne obniżenie aktywności L-asp < 100 U/l przy braku współwystępowania objawów klinicznych alergii na lek. Analizę statystyczną przeprowadzono z zastosowaniem pakietu Statistica (StatSoft, Polska).

Wyniki i wnioski: Badaniem objęto 44 pacjentów w wieku 1,5–18 lat. Mediana stężeń prokatepsyny w 33. dobie wynosiła 46,97 ng/ml (IQR 40,47–78,38 ng/ml) i była istotnie statystycznie wyższa niż stężenie proCTSB w 12. dobie (36,92 ng/ml; IQR 30,58–51,61; $p < 0,005$). Jednocześnie stężenie cystatyny C obniżyło się w 33. dobie względem doby 12. (698,34 ng/ml; IQR 530,70–880,55 vs 816,94 ng/ml; IQR 704,33–1065,68; $p = 0,0262$). Średnia aktywność L-asp korelowała dodatnio z wyjściowym stężeniem CysC, natomiast ujemnie ze stosunkiem proCTSB/CysC. U żadnego z pacjentów nie zaobserwowano objawów klinicznych nadwrażliwości na L-asp. W grupie pacjentów z tzw. cichą inaktywacją leku zaobserwowano istotnie niższe wyjściowe stężenie CysC ($p = 0,008$) oraz wyższy wyjściowy stosunek proCTSB/CysC ($p = 0,004$). Podaż L-asparaginazy związana jest ze zmianą profilu białek w surowicy. Przesunięcie równowagi proteazy–antyproteazy na korzyść badanych enzymów proteolitycznych może warunkować występowanie zjawiska cichej inaktywacji L-asp.

P3. PTEN AND SIL-TAL1 ALTERATIONS ARE RELATED TO UNFAVORABLE OUTCOME IN CHILDREN WITH T-CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA TREATED ACCORDING TO I-BFM TRIALS

mgr Bronisława Szarzyńska-Zawadzka¹,
dr Małgorzata Dawidowska¹, mgr Maria Kosmala¹,
Katarzyna Zdon², dr Przemysław Biecek²,
dr Łukasz Sędek³, mgr inż. Monika Drobna¹,
prof. Jerzy Kowalczyk⁴, prof. Tomasz Szczepański³,
prof. Michał Witt¹

¹Instytut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu

²Politechnika Warszawska

³Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁴Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Lublinie

Introduction: In ALL conventional prognostic factors are insufficient to recognize very high risk patients early during treatment. Thus, risk stratification refinement is a prerequisite for future therapy individualization and prompts research on genetic prognostic factors that could assist in clinical decisions.

Aim: To evaluate the prognostic value of 24 genes recurrently mutated in pediatric T-ALL patients.

Material and methods: 162 T-ALL patients, aged 1-18, treated according to I-BFM protocols ALL-IC BFM 2002 (56%) and ALL-IC BFM 2009 (44%). Mutations in NOTCH1 (exons 26, 27, 34), FBXW7 (exons 9 and 10), PTEN (exon 7), WT1 (exon 7 and 9), IL7R (exon 6), STAT5B (exon 16), FLT3 (exons 11-12), RUNX1 (exons 1,2,3,6) were detected either by high resolution melt analysis (HRM), Sanger sequencing, or both. Copy number alterations (CNA) in SIL-TAL1, LEF1, CASP8AP2, MYB, EZH2, CDKN2A/B, MLLT3, NUP214-ABL1, LMO1, LMO2, NF1, SUZ12, PTPN2, PTEN, PHF6 were detected by multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA). MRD was assessed by flow cytometry (FC-MRD at days 15, 33, 78); 'FC-MRD positive' result was defined as $\geq 0.01\%$. Statistics: univariate analyses with the use of Fisher exact test, Cochran-Mantel-Haenszel test (CMH), Kaplan-Meier analysis and log-rank test. Relapse-free survival (RFS) was defined as the time from diagnosis to the date of relapse or the last follow-up in complete remission.

Results and conclusions: Considering stratification for treatment protocol (CMH test), patients with PTEN alterations, carrying exon 7 mutations and/or CNA, were at higher risk of poor prednisone response (OR = 3.05; 95% CI: 1.2-7.6, $p = 0.02$). Patients carrying PTEN mutations (in exon 7 only) were at higher risk of positive FC-MRD before consolidation at day 78 (OR = 11.1; 95% CI: 2.4-54.1, $p = 0.0033$). PTEN alterations were related to more unfavorable outcome (pRFS of 60% vs. pRFS of 83% in non-mutated patients, $p = 0.0053$). When we analyzed pRFS in each of the protocols separately, the significant effect of PTEN alterations was retained in the ALL IC-BFM 2009 protocol ($p < 0.0001$ vs. $p = 0.96$ in ALL IC-BFM 2002). Similar correlations and dependencies were observed for SIL-TAL1 fusion. Multivariate analyses are underway. PTEN and SIL-TAL1 abnormalities are candidates for genetic risk markers in I-BFM treatment protocols. Results should be verified in a larger group of patients and with the use of multivariate analyses.

Research funded by National Science Centre grant: 2013/11/N/NZ5/03730.

P4. WTÓRNA PROLIFERACJA WIELOLINIOWA KOMÓREK UKŁADU KRWIOTWÓRCZEGO Z MONOSOMIĄ 7 U CHŁOPCA PO LECZENIU WZNOWY OSTREJ BIAŁACZKI LIMFOBLASTYCZNEJ

dr n. med. Aneta Pobudejska-Pieniążek¹,
dr n. med. Joanna Bulsa¹, dr n. med. Łukasz Sędek²,
dr n. med. Agata Kowalska-Pawlak³,
dr n. med. Alicja Sonsala¹,
prof. dr hab. n. med. Alberto Orfao⁴,
prof. dr hab. n. med. Tomasz Szczepański¹

¹Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii Dziecięcej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

²Katedra Mikrobiologii i Immunologii, Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

³Laboratorium Genetyczne, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 1 Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, Zabrze

⁴Cancer Research Centre (IBMCC, USAL-CSIC), Institute for Biomedical Research of Salamanca (IBSAL); Department of Medicine and Cytometry Service (NUCLEUS Research Support Platform), University of Salamanca (USAL), Salamanca, Spain

Wstęp: Pomimo postępów w leczeniu, u 15–20% dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL) występuje nawrót choroby. U niewielkiego odsetka rozwija się wtórna białaczka lub zespół mielodysplastyczny.

Cel: Opis wieloliniowej proliferacji u 11-letniego chłopca po wcześniejszym leczeniu ALL.

Materiał i metody: W okresie 10.2009–12.2011 u chłopca zastosowano chemioterapię zgodnie z protokołem ALL-IC BFM 2002 z powodu ALL z komórek prekursorowych limfocytów B (BCP-ALL). W okresie 12.2012–02.2016 leczony wg programu IntReALL 2010 z powodu późnej wznowy szpikowo-jądrowej ALL. Z uwagi na brak w pełni zgodnego dawcy, mimo dodatniej minimalnej choroby resztkowej (MRD), odstąpiono od alloprzeszczepienia macierzystych komórek krwiotwórczych i kontynuowano chemioterapię, uzyskując remisję. W czerwcu 2014 r. w badaniu cytomorfologicznym szpiku stwierdzono 5% blastów. Badanie cytometrii przepływowej nie wykazało komórek zgodnych z immunofenotypem MRD, ale kilka subpopulacji BCP z nieprawidłowym wzorcem dojrzewania (łącznie 3,5%) i obecność prekursorów komórek dendrytycznych (2,1%). Po zakończeniu terapii podtrzymującej obserwowano stopniowe narastanie odsetka nieprawidłowych komórek. Kolejne biopsje szpiku ujawniły proliferację 5 populacji komórek o nieprawidłowym immunofenotypie, obejmujące 3 populacje z linii prekursora limfocytu B, a także populacje prekursorów mieloidalnych oraz komórek dendrytycznych. Ocena rearanżacji genu IGH metodą PCR wykazała ich poliklonalny charakter we wszystkich subpopulacjach. Analiza cytogenetyczna wykazała kariotyp 45 XY, del (4)(q31?), - 7, (9)[20]. W badaniu FISH stwierdzono monosomię 7 w > 80% komórek, która nie była obecna

w komórkach białaczkowych przy I wznowie ALL. Zastosowanie CytoScan® 750K (Affymetrix®) potwierdziło nieprawidłowości kariotypu. Wobec narastania odsetka nieprawidłowych komórek (łącznie 27,5%) oraz hepatosplenomegalii przeprowadzono haplotransplantację komórek macierzystych od rodzica (03.2017), który został odrzucony. II haploprzeszczep (04.2017) powikłany był sepsą *Achromobacter xylosoxidans* i zgonem dziecka w wyniku niewydolności wielonarządowej.

Wyniki i wnioski: Prezentujemy wieloliniową wtórna proliferację z narastającą liczbą nieprawidłowych komórek prekursorowych powstałych w wyniku uszkodzenia komórki pnia, której markerem była monosomia 7.

P5. WYNIKI BADAŃ CYTOGENETYCZNYCH I MOLEKULARNYCH W RZADKIEJ POSTACI DZIECIĘCEJ OSTREJ BIAŁACZKI LIMFOBLASTYCZNEJ BCR-ABL1-LIKE

mgr Anna Kulikowska¹, mgr Karolina Karabin²,
dr n. med. Monika Lejman³, dr n. med. Katarzyna Pawelec⁴,
mgr inż. Agnieszka Stefaniak¹, mgr Anna Pastwińska⁵,
dr n. med. Marta Libura², mgr Mariusz Babicz⁶,
prof. dr hab. n. med. Michał Matysiak⁴,
mgr Elżbieta Chmarzyńska-Mróz¹

¹Pracownia Cytogenetyki, Zakład Patologii Wieku Rozwojowego, Samodzielny Publiczny Dziecięcy Szpital Kliniczny w Warszawie

²Pracownia Diagnostyki Molekularnej, Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

³II Katedra Pediatrii, Pracownia Diagnostyki Genetycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁴Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁵Katedra i Zakład Patomorfologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁶Pracownia Diagnostyki Genetycznej, Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Lublinie

Wstęp: Badania cytogenetyczne dostarczają ważnych informacji rokowniczych w ALL zarówno u dzieci, jak i u dorosłych. Głównymi niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi są: translokacja t(9;22) prowadząca do fuzji genów BCR-ABL1 oraz translokacje chromosomu 11 w punkcie 11q23 warunkujące rearanżację genu KMT2A. Gen ABL1, podobnie jak KMT2A, może tworzyć fuzję z innymi genami partnerskimi prowadząc do profilu ekspresji genów zbliżonym do obserwowanego w ALL BCR-ABL1-pozytywnej. Przypadki ALL z takimi fuzjami genowymi zostały zakwalifikowane do nowego podtypu określanego jako BCR-ABL1-like.

Cel: Przedstawiamy wyniki badań cytogenetycznych i molekularnych u 14-miesięcznego chłopca z rozpoznaniem *common* ALL.

Materiał i metody: Badania cytogenetyczne przeprowadzono na komórkach szpiku pacjenta z 24-godzinnej niestymulowanej hodowli *in vitro*, wykorzystując barwienia prążkowe GTG i CBG oraz technikę FISH. Badania molekularne wykonane zostały z użyciem metody multiplex PCR i sekwencjonowania metodą Sangera. Analizę defektów genów przeprowadzono przy użyciu macierzy CytoScan HD Array.

Wyniki i wnioski: Badania FISH przeprowadzone u pacjenta nie wykazały obecności fuzji genów BCR-ABL1 ani rearanżacji genu KMT2A. Stwierdzono natomiast obecność trzech i czterech sygnałów genu ABL1 odpowiednio w 46,5% i 3,5% jąder interfazowych, co wskazywało na możliwość fuzji z innym partnerem genowym niż gen BCR. Analiza kariotypu wykazała obecność dwóch nieprawidłowych metafaz, a dodatkowo wykonane badania FISH pozwoliły ustalić kariotyp pacjenta jako nieprawidłowy złożony z ewolucją klonalną: 47,XY,t(9;10)(q34;q22),+21[1]/48,sl,+der(10)t(9;10)[1]/46,XY[21]. Zaobserwowane punkty pęknięć wskazywały na możliwość zaangażowania w fuzję genu ZMIZ1. Wykonane badanie multiplex PCR oraz sekwencjonowanie metodą Sanger potwierdziło obecność genu fuzyjnego ZMIZ1-ABL1. Dodatkowo przeprowadzono analizę defektów genów przy użyciu mikromacierzy. Pełne ustalenie obrazu zmian genetycznych w komórkach nowotworowych wymaga współpracy zespołów cytogenetycznych i molekularnych. Gen fuzyjny ZMIZ1-ABL1 może kodować konstytutywną aktywność kinazy tyrozynowej, dlatego stanowi potencjalny cel działania leków będących inhibitorami tych enzymów (TKI). Z uwagi na doniesienia literaturowe o wysokim MRD i złej odpowiedzi na leczenie u pacjentów BCR-ABL1-like w przypadku braku efektu zastosowania standardowej terapii można rozważyć u tych pacjentów leczenie z użyciem TKI.

P6. SKRINING EKSPRESJI GENÓW USPRAWNIAJĄCY DIAGNOSTYKĘ GENETYCZNĄ OSTREJ BIAŁACZKI LIMFOBLASTYCZNEJ (ALL) "BCR-ABL1-LIKE"

dr Agata Pastorczak¹, Joanna Madzio¹,
Marta Ogrodowczyk¹, Marcin Braun²,
Kamila Wypyszczyk¹, Wojciech Młynarski¹,
Wojciech Fendler³

¹Klinika Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Zakład Patologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

³Zakład Biostatystyki i Medycyny Translacyjnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Wstęp: Jedyny sposób identyfikacji podtypu BCP-ALL – "BCR-ABL1-like" – stanowi wykrycie swoistych dla tej białaczki defektów genetycznych. Heterogeny profil mutacji typowych dla "BCR-ABL1-like" ALL łączy profil

ekspresji eksomu podobny do ALL z chromosomem Philadelphia (ALL Ph+). Rozpoznanie agresywnego podtypu "BCR-ABL1-like" BCP-ALL jest pierwszym etapem prowadzącym do zastosowaniu leczenia celowanego.

Cel: Celem pracy było wyselekcjonowanie panelu genów, których poziom ekspresji z dużą czułością różniuje "BCR-ABL1-like" ALL od innych podtypów BCP-ALL.

Materiał i metody: W celu identyfikacji sygnatury ekspresyjnej ALL Ph+ przeprowadzono metaanalizę ekspresji genów w bazie danych GEO (10 zbiorów, $n = 1113$), następnie zweryfikowano wyniki w zbiorze danych opublikowanym przez St. Jude Children's Research Hospital Memphis (USA, $n = 833$), w którym ekspresję genów (Ph+)-swoistych genów porównano pomiędzy białaczkami BCR-ABL1-like a innymi BCP-ALL. Uzyskane wyniki zweryfikowano eksperymentalnie za pomocą triplikatach metodą qPCR za pomocą mikrofluidycznych kart (TLDA array) (Thermo Scientific). Dodatkowo, w grupie walidacyjnej oznaczono ekspresję 5 genów znanych z piśmiennictwa jako związane z fenotypem BCR-ABL1-like. Do eksperymentu wyselekcjonowano grupę $n = 80$ przypadków BCP-ALL o zdefiniowanych podtypach molekularnych: MLL+, TEL-AML1+, BCR-ABL1+, BCR-ABL1-like, Hiperdiploid.

Wyniki i wnioski: Metaanaliza danych w bazie GEO wskazała ekspresję 20 genów, które istotnie różnią się pomiędzy Ph+ a (Ph-)BCP-ALL. W przypadku 14 spośród tych genów wykazano istotne różnice pomiędzy białaczkami BCR-ABL1-like a innymi podtypami: CRLF2, CASP10, LST10, DENND3, NPDC1, SH3BP5, PON2, SOX11, PHYH, DCTN4, CD99, ABL1, SOC2. Po walidacji ekspresji otrzymanej listy genów metodą qPCR w komórkach BCP-ALL o znanym genotypie ekspresja 5 spośród analizowanych genów była istotnie związana z podtypem "BCR-ABL1-like": CD99, SH3BP5, PON2, SOCS2, CASP10 z $p < 0.05$. Za pomocą regresji logistycznej z krokową wsteczną selekcją zmiennych stworzono klasyfikator, który posługując się poziomem ekspresji 3 genów (CD99, CASP10, PON2), identyfikował podtyp "BCR-ABL1-like" ALL z czułością 100%, swoistością 70%, AUC = 0,86. Podsumowując, zastosowanie pomiaru ekspresji panelu genów może być czułym narzędziem identyfikacji podtypu "BCR-ABL1-like" ALL, potencjalnie ograniczając grupę pacjentów wymagających dalszego badania za pomocą techniki sekwencjonowania RNA w poszukiwaniu typowych dla BCR-ABL1-like fuzji genowych.

Introduction: "BCR-ABL1-like" ALL can be solely identified based on the specific genetic aberrations. Heterogenous profile of mutations detected in "BCR-ABL1-like" ALL leads to the same expression profile of leukemic exome, which is similar to the one observed in Philadelphia positive (Ph+) ALL. Diagnosis of the aggressive subtype "BCR-ABL1-like" BCP-ALL is needed for further application of targeted therapy.

Aim: Aim of the study was to search for the panel of genes which expression differentiate "BCR-ABL1-like" ALL from other subtypes of BCP-ALL.

Material and methods: In order to identify expression signature of ALL Ph+ metaanalysis of gene expression in GEO database was performed (10 datasets, $n = 1113$), than the results were verified in dataset published by St. Jude Children's Research Hospital Memphis (USA, $n = 833$), in which the expression of Ph-related genes was compared between BCR-ABL1-like and other subtypes of ALL. Final results of the analysis were tested experimentally by qPCR method using with TLDA array (Thermo Scientific). Additionally, in the validation cohort the expression of 5 genes known as associated with BCR-ABL1-like genotype was assessed. In total $n = 80$ BCP-ALL cases which represent defined subtypes of ALL such as MLL+, TEL-AML1+, BCR-ABL1+, BCR-ABL1-like, hiperdiploid, were enrolled for qPCR experiment.

Results and conclusions: The metaanalysis of GEO datasets revealed $n = 20$ genes which expression significantly differed between Ph+ and Ph- BCP-ALL. Among these genes $n = 14$ had also different expression in BCR-ABL1-like in comparison with other subtypes of ALL: CRLF2, CASP10, LST10, DENND3, NPDC1, SH3BP5, PON2, SOX11, PHYH, DCTN4, CD99, ABL1, SOC2. After the experimental validation of the expression levels of the selected panel of genes, $n = 5$ of them showed to be associated with the subtype "BCR-ABL1-like": CD99, SH3BP5, PON2, SOCS2, CASP10 with $p < 0.05$. Finally, we created the classifier using logistic regression identifying "BCR-ABL1-like" ALL subtype based on the expression levels of 3 genes (CD99, CASP10, PON2) with sensitivity 100%, specificity 70%, AUC = 0.86. To summarize, the measurement of the expression level of the panel of genes is sensitive tool for detection of "BCR-ABL1-like" ALL. Its application may potentially limit final number of cases which benefit from further diagnostics using RNA seq.

P7. OCENA OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO (OUN) U DZIECI LECZONYCH Z POWODU OSTREJ BIAŁACZKI LIMFOBLASTYCZNEJ (ALL) WYSOKIEGO RYZYKA Z UWZGLĘDNIENIEM PACJENTÓW PODDANYCH PRZESZCZEPIENIU KOMÓREK MACIERZYSTYCH UKŁADU KRWIOTWÓRCZEGO (HSCT)

dr med. Olga Zając-Spychała¹, dr Mikołaj Pawlak²,
dr hab. Katarzyna Karmelińska-Katulska³,
mgr Jakub Pilarczyk¹, dr Katarzyna Jończyk-Potoczna⁴,
Agnieszka Przepióra⁴, dr hab. Katarzyna Derwich¹,
dr Anna Pieczonka¹, prof. Jacek Wachowiak¹

¹Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii
Pediatrycznej, Uniwersytet Medyczny
im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

²Klinika Neurologii i Chorób Naczyniowych Układu
Nerwowego, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego
w Poznaniu

³Zakład Neuroradiologii, Uniwersytet Medyczny
im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

⁴Zakład Radiologii Pediatrycznej, Uniwersytet Medyczny
im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Wstęp: Uszkodzenie ośrodkowego układu nerwowego (OUN) jest jednym z istotnych powikłań po leczeniu ALL u dzieci, zwłaszcza tych, u których stosowano napromienienie OUN.

Cel: Celem pracy była ocena odległych następstw w obrębie OUN u pacjentów z ALL z grupy wysokiego ryzyka (HR) oraz porównanie obserwowanych zmian strukturalnych i funkcjonalnych u tych, u których wykonywano zabieg HSCT z grupą poddaną wyłącznie profilaktycznemu napromienieniu OUN oraz grupą kontrolną.

Materiał i metody: Dotychczas przebadano 41 dzieci w wieku 7,8-18,6 (mediana: 11,5), w tym 25 dzieci z ALL grupy HR (12 poddanych HSCT i 13 leczonych bez HSCT) oraz 16 z *de novo* rozpoznanej ALL stanowiących grupę kontrolną. Wszyscy pacjenci leczenia byli zgodnie z ramieniem HR wg ALL IC-BFM 2002, a w przygotowaniu do HSCT zastosowano kondycjonowanie oparte na FTBI (12 Gy) u 10 pacjentów oraz wyłącznie chemioterapii u 2 pacjentów. Do oceny strukturalnej mózgowia wykorzystano sekwencje wolumetryczne T1- i T2-zależne tomografii rezonansu magnetycznego, które pozwoliły na pomiary wolumetryczne struktur podkorowych. Badanie neuropsychologiczne obejmowało zestaw testów do oceny funkcjonowania poznawczego.

Wyniki: W obu badanych grupach stwierdzono istotnie mniejszą objętość ciała migdałowatego w porównaniu z grupą kontrolną (odpowiednio $p = 0,048$ i $p = 0,045$). Objętości pozostałych struktur podkorowych nie różniły się istotnie pomiędzy grupami. U pacjentów poddanych HSCT wykazano niższy iloraz inteligencji zarówno w skali słownej ($p = 0,033$ i $p = 0,022$), jak i pełnej ($p = 0,011$ i $p = 0,044$) mierzonej Skalą Inteligen-

cji Wechslera, gorszą pamięć wzrokowo-przestrzenną ($p = 0,021$ i $p = 0,011$) w Teście Pamięci Wzrokowej Bentona oraz gorszy poziom funkcji wykonawczych ($p = 0,024$ i $p = 0,018$) w Teście Sortowania Kart z Wisconsin w porównaniu z pacjentami leczonymi bez HSCT oraz z grupą kontrolną. Ponadto u pacjentów, u których zastosowano HSCT, stwierdzono mniejszą szybkość przetwarzania informacji w Teście Stroopa ($p = 0,008$) w porównaniu z grupą kontrolną, a bez istotnej różnicy w porównaniu z pacjentami z HR ALL niepoddanymi HSCT.

Wnioski: 1. U dzieci z ALL wysokiego ryzyka niezależnie od sposobu leczenia stwierdzono zmniejszenie objętości ciała migdałowatego. 2. Dodatkowo u pacjentów poddanych HSCT poprzedzonej FTBI występują deficyty poznawcze w zakresie ilorazu inteligencji, pamięci wzrokowo-przestrzennej, szybkości przetwarzania informacji oraz funkcji wykonawczych, których nie obserwowano u pacjentów leczonych wyłącznie chemioterapią.

Praca wykonana w ramach grantu NCN nr 2012/05/N/NZ5/00879.

Introduction: Central nervous system (CNS) damage is one of the most clinically relevant complications after acute lymphoblastic leukemia (ALL) treatment in children, especially those who got CNS irradiation.

Aim: The aim of the study was to assess long-term consequences of CNS prophylaxis in patients with high risk (HR) ALL treated according to ALL IC-BFM 2002 and to compare observed abnormalities in patients who underwent allo-HSCT to those HR-ALL patients who received only prophylactic CNS irradiation (12 Gy) and to control group.

Material and methods: We studied 46 children aged 7.4-18.6 years (median: 11.5), including 30 children cured from HR-ALL (16 with allo-HSCT and 14 without HSCT) and 16 children with newly diagnosed ALL (control group). In studied group median time from therapy ended was 62 months. All patients were treated according to the HR arm of ALL IC-BFM 2002 (16 with allo-HSCT and 14 without HSCT). In HSCT group 14 patients were conditioned with FTBI (12 Gy) and 2 with high-dose chemotherapy alone. To assess brain status, volumetric T1- and T2-weighted sequences of MRI were used, which allowed for segmentation and volumetric measurements of subcortical structures. Neuropsychological assessment based on battery neuropsychological tests.

Results: All studied patients had significantly lower volume of the amygdala in comparison to control group ($p = 0.048$ and $p = 0.045$, respectively). Volumes of other subcortical structures did not differ significantly between compared groups. Patients undergoing allo-HSCT had lower average IQ level in both, verbal scale ($p = 0.033$ and $p = 0.022$) and full scale ($p = 0.011$ and $p = 0.044$) in WISC-R, worse visual-spatial memory ($p = 0.021$ and $p = 0.011$) in comparison to HR-ALL patients treated without allo-HSCT and control group. Moreover, transplanted patients performed significantly worse on measures of executive functioning ($p = 0.024$

and $p = 0.018$). They had also slower processing speed ($p = 0.008$) when compared to the control group, but with no significant difference to non-transplanted HR-ALL patients. There was no differences in short term memory and verbal memory between groups.

Conclusions: 1. All patients treated for HR-ALL, both transplanted and non-transplanted, had reduced amygdala volume. 2. Only transplanted patients had cognitive impairment in IQ, visual-spatial memory, processing speed and executive functions domains that were not observed in non-transplanted patients.

This work was supported by grant from the National Science Centre (DEC-2012/05/N/NZ5/00879).

P8. ZASADY ŻYWIENIA DZIECI Z ROZPOZNANYM NOWOTWOREM UKŁADU KRWIOTWÓRCZEGO PODCZAS CHEMIOTERAPII

dr n. med. Eleonora Mess, mgr Katarzyna Sobala, student 6 roku, lekarski Maciej Ornat

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wstęp: Negatywne skutki choroby nowotworowej u dzieci nie wynikają jedynie z obecności nowotworu, ale towarzyszących jej licznych zespołów paranowotworowych oraz efektów ubocznych terapii farmakologicznej, która ma charakter agresywny. Dużą część, niekiedy bardzo uciążliwych dla pacjenta, problemów zdrowotnych związanych z przebiegiem choroby nowotworowej można z imponującą skutecznością modulować poprzez właściwe interwencje w doborze rodzaju, ilości i formy pożywienia. Opieka medyczna skupia się na prowadzeniu leczenia farmakologicznego i chirurgicznego, pod względem żywieniowym niejednokrotnie zostawiając pacjenta w stanie niewiedzy. Grupa pacjentów, jaką są chorzy onkologiczni, stanowi szczególne ryzyko w kontekście niedożywienia szpitalnego mogącego dodatkowo wzmacniać problem wyniszczenia nowotworowego towarzyszącego niejednokrotnie postępującej chorobie onkologicznej.

Cel: Omówienie zasad żywienia dzieci w wieku szkolnym w przebiegu choroby nowotworowej układu krwiotwórczego.

Materiał i metody: Materiał opiera się na zebraniu literatury na temat zasad żywienia pacjentów onkologicznych, a zwłaszcza dzieci, co skłania do zastanowienia, co w poszczególnych etapach leczenia i rekonwalescencji będzie modulowało apetyt, a czasem nawet ograniczało możliwości przyjmowania pokarmów przez chorego. Na różnych etapach leczenia zmieniać się będą priorytety odnośnie do odżywiania, od niedopuszczenia do powstania wyniszczenia nowotworowego, przez zapewnienie organizmowi podstawowych składników odżywczych, do wspomagającej dietoterapii.

Wyniki i wnioski: Zastosowanie odpowiedniej diety może mieć charakter modulujący w stosunku do przebiegu choroby. Nieodpowiednio dobrana dieta może znacznie pogorszyć efektywność leczenia oraz ogólny stan chorego dziecka. W wyniku błędów dietetycznych dochodzi do stanu niedożywienia pacjenta, który nie rokuje dobrze, przyczynia się do pogłębienia wyniszczenia nowotworowego, osłabia działanie terapii przeciwnowotworowej, może doprowadzić do nasilenia zespołów paraneoplastycznych. Właściwy dobór produktów będących źródłem węglowodanów, tłuszczu i białka może decydować o intensywności zachodzenia procesów kancerogenezy. Istotną rolę odgrywa zapewnienie organizmowi odpowiedniej podaży witamin i minerałów, które stanowią ochronę antyoksydacyjną organizmu. W hamowaniu rozrostu nowotworu istotną rolę odgrywa spożywanie produktów węglowodanowych o niskich indeksach glikemicznych.

P9. NIEKORZYSTNE ZDARZENIA U DZIECI Z OSTRĄ BIAŁACZKĄ LIMFOBLASTYCZNĄ (ALL) LECZONYCH W LATACH 1994-2011. BADANIE JEDNOOŚRODKOWE

dr Katarzyna Adamczewska-Wawrzynowicz¹,
student Katarzyna Molenda², dr Agata Szłapińska¹,
prof. Jacek Wachowiak¹,
dr hab. med. Katarzyna Derwich¹

¹Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii
Pediatrycznej II Katedry Pediatrii, Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego

²Studenckie Koło Naukowe, Klinika Onkologii, Hematologii
i Transplantologii Pediatrycznej II Katedry Pediatrii,
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego

Wstęp: ALL jest najczęstszą chorobą nowotworową wieku dziecięcego. Pacjenci kwalifikowani są do grupy ryzyka niskiego (SRG), pośredniego (IRG) lub wysokiego (HRG).

Cel: Retrospektywna analiza niekorzystnych zdarzeń u dzieci z ALL leczonych wg programu ALL BFM-90/ New York w latach 1994–2001 oraz ALL IC BFM 2002 w latach 2002–2011.

Materiał i metody: W latach 1994–2001 leczono 103 dzieci (F – 48 [46,6%]; M – 55 [53,4%]) z ALL w wieku 1–17 lat (med. 5 lat). Do SRG zakwalifikowano 69 (67%) dzieci leczonych wg protokołu ALL BFM-90, natomiast do HRG i leczenia programem New York – 34 (33%) pacjentów. W latach 2002–2011 leczono 196 dzieci (F – 90 [46%]; M – 106 [54%]) w wieku 1–18 lat (med. 5,04 roku), w tym SRG – 53 (27%), IRG – 74 (37%), HRG – 69 (35%). Jako niekorzystne zdarzenie definiowano brak remisji, wznowę choroby, zgon wczesny oraz zgon w remisji.

Wyniki: W latach 1994–2001 w SRG remisję osiągnęło 94,2% dzieci, natomiast w HRG 87,9%. Wznowa wystąpiła u 13 (12,7%) dzieci, w tym 6 (8,7%) w grupie SR (szpikowa – 5 [83,3%], szpikowo-mózgowe – 1 [16,7%])

i 7 (21,2%) w grupie HR (szpikowa – 5 [71,4%], szpikowo-jądrowa – 1 [14,3%], mózgowa – 1 [14,3%]). Zgon z powikłań leczenia zaobserwowano u 2 (2,0%) dzieci. Pierwotną oporność na leczenie zaobserwowano u 1 (2,9%) dziecka z grupy HR. Wśród pacjentów leczonych zgodnie z protokołem ALL-IC BFM 2002 remisję osiągnęło 190 (97%) dzieci. Wystąpiło 29 (14,8%) wznów w czasie 1,1–79 miesięcy (mediana: 29,5 miesiąca) od rozpoznania choroby, odpowiednio: 14 (48,3%) szpikowych (SR:4, IR:5, HR:5), 4 (13,7%) mózgowe (SR:1, IR:1, HR:2), 1 (3,4%) jądrowa (HR), 1 (3,4%) w śródpiersiu (HR) oraz 9 (31%) mieszanych: 6 szpikowo-mózgowych (SR:1, IR:3, HR:2), 1 mózgowo-jądrowa (IR), 1 szpikowo-jądrowa (IR) i 1 szpikowo-mózgowo-brzuszną (SR). Ogólna liczba zgonów wyniosła 27 (13,8%): 14 (7,1%) z powikłań leczenia: 9 w CR1 (IR:2, HR:7), 5 w obrazie MODS po TSK (HR), 16 (8,2%) z powodu wznowy/progresji choroby (SR:3, IR:5, HR:8), 1 (0,5%) w wypadku komunikacyjnym.

Wnioski: 1. Najczęstszą przyczyną niepowodzeń była wznowa choroby, najczęściej szpikowa. Odsetek wznów był porównywalny w obydwu grupach terapeutycznych. 2. Izolowane wznowy mózgowe oraz wznowy mieszane występowały częściej wśród pacjentów leczonych zgodnie z ALL IC BFM 2002 niż u leczonych według ALL BFM-90/New York, bez względu na grupę ryzyka. 3. Zgony z powikłań występowały w grupach pośredniego i wysokiego ryzyka i ich odsetek był wyższy u dzieci leczonych wg protokołu ALL IC BFM 2002.

P10. ZASTOSOWANIE MACIERZY CYTOSCAN HD ORAZ TECHNIKI MLPA DIAGNOSTYCZNE OSTRYCH BIAŁACZEK U DZIECI

mgr Borys Styka¹, mgr Mariusz Babicz¹,
dr Monika Lejman^{1,2}, dr Dorota Winnicka^{1,2},
lek. med. Ilona Jaszczyk³,
dr Katarzyna Wojciechowska³, Marta Holweg¹,
dr Joanna Zawitkowska⁴, prof. Jerzy Kowalczyk⁴

¹Pracownia Diagnostyki Genetycznej, USzD w Lublinie

²Pracownia Diagnostyki Genetycznej II Katedry Pediatrii,
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Poradnia Genetyczna, Klinika Hematologii, Onkologii
i Transplantologii II Katedry Pediatrii, Uniwersytet Medyczny
w Lublinie

⁴Klinika Hematologii, Onkologii i Transplantologii II Katedry
Pediatrii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Ostra białaczka limfoblastyczna jest najczęstszym nowotworem wieku dziecięcego. Podstawowe badania, jak cytogenetyka klasyczna oraz FISH, dostarczają ważnych informacji odnośnie do stratyfikacji do odpowiednich grup terapeutycznych. Hipodiploidia w przypadku niepowodzenia hodowli komórkowej jest bardzo trudna do wykrycia. Obecnie badania z użyciem macierzy SNP oraz techniki MLPA wydają się narzędziami umożli-

wiającymi wykrycie zarówno zmian liczby chromosomów, jak i niezrównoważonych translokacji, delecji i duplikacji.

Cel: Wykazanie przydatności nowych technik badawczych, jakimi są MLPA oraz macierze SNP w diagnostyce ostrych białaczek u dzieci.

Materiał i metody: Materiałem do badania był szpik kostny pobrany od 40 pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną. Przeprowadzono 24-godzinne niestymulowane hodowle komórkowe *in vitro*, na których wykonano badanie kariotypu z zastosowaniem barwienia GTG oraz badania FISH. Badania molekularne przeprowadzono z użyciem metody MLPA oraz macierzy SNP CytoScanHD.

Wyniki i wnioski: U 36 pacjentów otrzymano kariotyp prawidłowy, w 4 hodowlach nie udało się uzyskać płytek metafazalnych do analizy cytogenetycznej. Wyniki badań fuzji BCR-ABL1 i rearanżacji genu KMT2A były prawidłowe. Badanie FISH z zastosowaniem sondy ETV6-RUNX1 wykazało obecność fuzji genów ETV6-RUNX1 u 8 pacjentów (20%). Stwierdzono również obecność dodatkowych sygnałów pochodzących z regionu genu RUNX1. Badania przeprowadzone przy użyciu macierzy SNP potwierdziły zmiany liczbowe widoczne w badaniu FISH. Podczas analizy mikromacierzy SNP zaobserwowano u większości pacjentów dodatkowe delecje i duplikacje w genach odpowiedzialnych za leukemogenezę. Najczęstszą wykrytą zmianą była delecja genów CDKN2A, CDKN2B, MTAP. Analiza wyników umożliwiła wyodrębnienie grup pacjentów charakteryzujących się profilem genetycznym BCR-ABL-like ze zmianami w genach ABL1, JAK2 oraz grupy pacjentów IKZF1-like z delecjami w genach CDKN2A, PAX5, IKZF1, CRLF2. Zaobserwowano również niezrównoważenia genomu w obrębie genów: FOXO3, ERG, EWSR1, CHEK2, FLT3, PTEN, TAL1, TP53, TP73, PAX9, MLLT3, FLI1. Wyniki zostały potwierdzone przy użyciu odpowiednich zestawów MLPA. Pełna diagnostyka zmian genetycznych w ALL u dzieci wymaga zaangażowania technik cytogenetyki klasycznej oraz nowych technik biologii molekularnej. Możliwość zastosowania macierzy SNP oraz MLPA stwarza warunki do lepszej i dokładniejszej diagnostyki pacjentów.

P11. PONATYNIB W LECZENIU OSTREJ BIAŁACZKI LIMFOBLASTYCZNEJ PH DODATNIEJ U PACJENTA Z PROGRESJĄ MOLEKULARNĄ PO IMATYNIBIE I DAZATYNIBIE

Małgorzata Gajewska

Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowy Instytut Medyczny Centralny Szpital Kliniczny MON

Wstęp: Chory, lat 65, z B komórkową postacią ostrej białaczki limfoblastycznej Ph(+) w wyniku standardowego leczenia indukującego uzyskał remisję molekularną. Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego nie wykazało zajęcia OUN. Kurs chemioterapii powikłany go-

rażką neutropeniczną leczoną empirycznie antybiotykoterapią szerokowidmową i G-CSF. Badania kontrolne po II i IV kursie konsolidującym wskazywały na utrzymującą się remisję molekularną. Po VI kursie konsolidującym wykazano 8,8% transkryptu bcr/abl. Do leczenia włączono dazatynib. Lek odstawiono po 6 cyklach z powodu progresji molekularnej. Wystąpiono z wnioskiem o dostarczenie ponatynibu w ramach darmowego udostępnienia leku w Polsce. Leczenie przerwano w grudniu 2016 r. W czasie leczenia nie odnotowano istotnych powikłań hematologicznych i niehematologicznych. Badanie kontrolne po 2 miesiącach wykazało remisję molekularną. W czerwcu 2017 r. chory zgłosił się na SOR z powodu bólu w klatce piersiowej. W badaniach laboratoryjnych stwierdzono podwyższony poziom TnT, w EKG obniżenie odcinka ST. Koronarografia wykazała ciasne zwężenia GLTW, GPZ, GO, PTW. Chory został zakwalifikowany do zabiegu CABG. Ponatynib odstawiono. Zabieg kardiochirurgiczny przebiegł bez powikłań. U chorego zaplanowano ocenę skuteczności leczenia po wypisie z Kliniki Kardiochirurgii. Decyzja o wznowieniu leczenia będzie oparta na ocenie stosunku korzyści do ryzyka.

P12. ANALIZA STANU ODŻYWIENIA DZIECI Z OSTRĄ BIAŁACZKĄ LIMFOBLASTYCZNĄ W TRAKCIE LECZENIA PROTOKOŁEM ALL IC BFM 2002 – RETROSPEKTYWNE BADANIE JEDNOOŚRODKOWE

Karol Lubarski¹, Michał Nowak¹, Marta Stryczek¹, dr Patrycja Marciniak², dr hab. n. med. Katarzyna Derwich³, prof. dr hab. n. med. Jacek Wachowiak²

¹Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

²Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

³Opiekun Studenckiego Koła Naukowego, Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Wstęp: Ostra białaczka limfoblastyczna (ALL) jest najczęstszym nowotworem wieku dziecięcego, stanowiąc ok. 30% rozpoznania wśród tej grupy pacjentów. Intensywna wielolekowa chemioterapia pozwala uzyskać trwałą remisję u ponad 80% dzieci, jednak wiąże się z ryzykiem wystąpienia licznych powikłań. Stan odżywienia pacjentów z ALL wpływa istotnie na przebieg leczenia przeciwnowotworowego.

Cel: Celem pracy była retrospektywna analiza zmian stanu odżywienia pacjentów z ALL w trakcie realizacji chemioterapii według protokołu ALL IC BFM-2002 leczonych w latach 2010–2014.

Materiał i metody: Spośród 197 pacjentów z ALL ostrej analizie poddano 51 pacjentów (23 dziewczęta,

28 chłopców), mediana wieku 3 lata (zakres 1–17 lat). Według kryteriów ALL IC BFM-2002 do grupy ryzyka standardowego (SR) zakwalifikowano 14 (27%) pacjentów, pośredniego (IR) 26 (51%), wysokiego (HR) 11 (22%), a zajęcie OUN stwierdzono u 7 (14%) pacjentów. Ustalono cztery punkty pomiarowe do oceny zmian stanu odżywienia: 1) przed wdrożeniem leczenia, 2) w 33. dobie indukcji, 3) przed konsolidacją, 4) przed późną intensyfikacją, w których przeanalizowano parametry antropometryczne (waga, wzrost, BMI) i biochemiczne (stężenie albumin, hemoglobiny, liczba leukocytów, limfocytów, płytek krwi; aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT) i asparaginianowej (AST), bilirubiny całkowitej, kreatyniny). Wykonano analizę statystyczną za pomocą programu Statistica 12,5 (Statsoft) w oparciu o test Shapiro-Wilka, test nieparametryczny ANOVA oraz analizę post-hoc dla testu Friedmanna.

Wyniki i wnioski: W całej grupie pacjentów oraz niezależnie w grupie IR stwierdzono statystycznie istotną różnicę ($p < 0,0001$) między pomiarami danej cechy we wszystkich punktach pomiarowych w odniesieniu do stężenia albumin, hemoglobiny, leukocytów, limfocytów i liczby płytek, oraz ALT, bilirubiny i kreatyniny. W grupie IR zaobserwowano dodatkowo statystycznie istotną zależność między aktywnością AST, a w grupie SR istotność stwierdzono między odpowiednimi pomiarami stężeń hemoglobiny, bilirubiny i liczby płytek. W obrębie analizowanych cech najczęściej stwierdzono niezależne występowanie różnic wartości danej cechy między pomiarami przed włączeniem leczenia (pomiar 1.) a zakończeniem indukcji remisji (pomiar 3.) oraz przed włączeniem leczenia (pomiar 1.) a zakończeniem konsolidacji (pomiar 4.). Intensywna chemioterapia w czasie leczenia ALL ma złożony wpływ na stan odżywienia pacjentów. Najbardziej niekorzystnie na stan odżywienia chorych wpływa indukcja i konsolidacja leczenia ALL.

P13. RETROSPEKTYWNA OCENA WYNIKÓW LECZENIA OSTREJ BIAŁACZKI LIMFOBLASTYCZNEJ U DZIECI WEDŁUG PROTOKOŁU ALL IC BFM 2002. BADANIE JEDNOOŚRODKOWE

Patrycja Wojtyra¹, Karolina Mechelewska¹,
Katarzyna Adamczewska-Wawrzynowicz¹,
Agata Adamczewska²,
dr n. med. Patrycja Marciniak-Stępak²,
prof. dr hab. med. Jacek Wachowiak²,
dr hab. med. Katarzyna Derwich²

¹Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

²Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Wstęp: Najczęstszym nowotworem u dzieci jest ostra białaczka limfoblastyczna (ALL). Długotrwałą remisję uzyskuje ok. 80% pacjentów. Chorzy są kwalifikowani do trzech grup ryzyka w oparciu o: wiek, wstępną WBC, wczesną odpowiedź na kortykosteroidoterapię, poziom minimalnej choroby resztkowej oraz obecność translokacji BCR/ABL, MLL/AF4, TEL/AML1. Stratyfikacja chorych do grup ryzyka pozwala na wybranie odpowiedniej ścieżki leczenia opartej na wielolekowej chemioterapii. Składa się ona z: indukcji remisji, konsolidacji, reindukcji oraz leczenia podtrzymującego z uwzględnieniem profilaktyki OUN.

Cel: Praca obejmuje retrospektywną ocenę wyników leczenia ALL u dzieci, leczonych wg protokołu ALL IC BFM 2002.

Materiał i metody: Ocenie poddano 196 dzieci (90 [46%] dziewcząt, 106 [54%] chłopców) w wieku 1–18 lat (mediana: 5 lat). Wśród nich było 52 (26%) SR, 74 (37%) IR i 69 (35%) pacjentów HR. Białaczkę typu BCP-ALL rozpoznano u 149 (76%), T-ALL u 17 (9%), ALL z koekspresją antygenów mieloidalnych u 24 (12%) i BAL u 6 (3%) dzieci. Wstępne zajęcie OUN występowało u 8 (4%) dzieci. Analiza obejmuje okres od listopada 2002 r. do marca 2017 r. (171 miesięcy).

Wyniki i wnioski: Remisję w 33. dobie stwierdzono u 190 (97%) pacjentów. U 29 (14,8%) dzieci rozpoznano wznowę białaczki w okresie od 1,1 do 79 miesięcy (mediana: 29,5 miesięcy) od zdiagnozowania choroby, w tym SR – 7 (24,1%), IR – 11 (37,9%) i HR – 11 (37,9%). Wznowę szpikową odnotowano u 14 (48%), mózgową u 4 (14%), mózgowo-szpikową u 6 (21%), jądrową u 1 (3%), jądrowo-szpikową u 1 (3%), jądrowo-mózgową u 1 (3%) z pacjentów. U 2 (7%) dzieci wznowy wystąpiły kolejno w postaci guza brzucha i guza śródpiersia. Ogólna liczba zgonów wynosiła 27 (13,8%; SR – 4 [15%], IR – 7 [26%], HR – 16 [59%]): 14 (7,1%) z powikłań leczenia: 9 w CR1 (IR:2, HR:7), 5 w obrazie MODS po TSK (HR), 16 (8,2%) z powodu wznowy/progresji choroby (SR:3, IR:5, HR:8) oraz 1 (0,5%) w wypadku komunikacyjnym. Prawdopodobieństwo 15-letniego pEFS wyniosło $0,81 \pm 0,05$, a pRFS $0,85 \pm 0,05$. Obecnie w remisji żyje 168 (86%) pacjentów. Wieloletnią remisję uzyskano u ponad 80% dzieci z ALL leczonych wg protokołu ALL IC BFM 2002. Wśród niekorzystnych zdarzeń dominowały wznowy szpikowe oraz mózgowo-szpikowe, które obserwowano przede wszystkim u pacjentów z grup ryzyka pośredniego oraz wysokiego. Zgony w CR1 z powodu powikłań wystąpiły wyłącznie u dzieci z grupy ryzyka pośredniego i wysokiego, częściej w grupie ryzyka wysokiego.

P14. BIOLOGICZNO-KLINICZNE ZNACZENIE EKSPRESJI MRNA ENZYMÓW MUTATOROWYCH W OSTREJ BIAŁACZCE LIMFOBLASTYCZNEJ B-KOMÓRKOWEJ (B-OBL) U DOROSŁYCH

**mgr Karolina Karabin¹, prof. Sebastian Giebel²,
prof. Przemysław Juszczynski³, dr Marta Wiśnik¹,
mgr Hanna Makuch-Łasica³, dr Katarzyna Borg³,
dr Monika Paluszewska¹, mgr Bożena Jaźwiec⁴,
dr hab. Katarzyna Kapelko-Słowik⁴,
dr Magdalena Zawada⁵, dr Sylwia Czekalska⁵,
mgr Izabela Florek⁵, dr hab. Beata Piątkowska-Jakubas⁵,
lek. Elżbieta Patkowska^{3,6}, dr Michał Gnio⁷,
dr hab. Lidia Gil⁷, dr hab. Anna Czyż⁷,
prof. Ewa Lech-Marańda³,
prof. Wiesław Wiktor Jędrzejczak¹, dr Marta Libura¹**

¹Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Gliwice

³Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁴Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Wrocław

⁵Oddział Kliniczny Hematologii, Szpital Uniwersytecki, Kraków

⁶Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie; Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, Warszawa, Polska

⁷Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego Poznań, Polska

Wstęp: B-OBL jest genetycznie heterogenną grupą schorzeń. Dostępne dane literaturowe wskazują na udział w mutageniezie i progresji B-OBL enzymów mutatorowych indukujących niestabilność DNA, takich jak rekombinaza RAG oraz deaminaza AID. O ile rola tych enzymów w patogenezie B-OBL została udowodniona, to związek ich ekspresji z parametrami biologiczno-klinicznymi w B-OBL u dorosłych nie został przebadany. Ostatnie doniesienia wskazują na udział innych enzymów z rodziny deaminaz cytydyny APOBEC3A (A3A) i APOBEC3B (A3B) w mutageniezie nowotworów. Na podstawie analizy sygnatur mutacji wybranych nowotworów zasugerowano możliwy udział tych enzymów także w patogenezie B-OBL. Brakuje jednak danych na temat bezpośredniego zaangażowania tych enzymów w transformację i progresję choroby.

Cel: Celem pracy jest charakterystyka ekspresji mRNA genów kodujących enzymy mutatorowe RAG, AID, A3A i A3B w B-OBL u dorosłych w korelacji z danymi biologicznymi oraz klinicznym przebiegiem choroby.

Materiał i metody: W pracy uwzględniono 194 próbki od chorych z B-OBL (wiek 18–80 lat) zdiagnozowanych w latach 2007–2016, leczonych wg protokołu PALG-ALL5 lub ALL6. Relatywna ekspresja genów została oceniona za pomocą metody RQ-PCR. Ponadto chorzy zostali przebadani metodą PCR w kierunku powszechnie występujących genów fuzyjnych, wybranych

rearanżacji genowych charakterystycznych dla grupy BCR-ABL1-like oraz delecji w genie IKZF1.

Wyniki: Wykazano istotne statystycznie różnice w ekspresji mRNA enzymów w podgrupach genetycznych, wiekowych, immunofenotypowych oraz występowaniem nacieków narządowych i odpowiedzią na sterydoterapię. Interesującym wydaje się fakt wysokiej ekspresji enzymów A3A oraz A3B w białaczkach, w których nie stwierdzono aberracji genetycznych (tzw. grupa NEG). W całości analizowanej grupy B-OBL wykazano pozytywną korelację pomiędzy wysoką ekspresją genów A3A ($p = 0,001$) i A3B ($p = 0,0002$) a uzyskaniem CR po pierwszej indukcji. Chociaż grupa ta ma korzystne rokowanie, to jednak wysoka ekspresja A3A u tych chorych była związana z krótszym czasem OS ($p = 0,001$) i DFS ($p = 0,01$). Spośród wszystkich badanych enzymów wysoka ekspresja mRNA A3A jest czynnikiem prognostycznym związanym z krótszym czasem OS i DFS w całości grupy B-OBL, a także w podgrupie chorych, którzy uzyskali CR po pierwszej indukcji.

Wnioski: Wyniki badań wskazują na zróżnicowaną rolę enzymów mutatorowych w poszczególnych podgrupach B-OBL u dorosłych. Wysoka ekspresja mRNA A3A może być markerem progresji choroby.

P15. CHOROBY ZAPALNE STAWÓW U DZIECI PO LECZENIU NOWOTWORÓW UKŁADU KRWIOTWÓRCZEGO

**lek. med. Katarzyna Smalisz-Skrzypczyk,
dr hab. n. med. Iwona Malinowska,
prof. dr hab. n. med. Michał Matysiak**

Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Choroby zapalne stawów są rzadkie po leczeniu nowotworów u dzieci.

Cel: Ocena przebiegu chorób zapalnych stawów u dzieci po leczeniu białaczek i chłoniaków.

Materiał i metody: Analizowano 6 przypadków chorób zapalnych stawów spośród 310 dzieci (2%) leczonych z powodu białaczek i chłoniaków w Klinice Pediatrii Hematologii i Onkologii WUM w latach 2010–2017. U 5 dziewczynek (83%) i 1 chłopca w wieku od 14 do 17,5 roku życia, mediana 15,7 roku, oceniono wiek w chwili wystąpienia zmian, typ i lokalizację zapalenia stawów oraz leczenie. Cztero z tych dzieci było leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej (66%), 1 (17%) z powodu chłoniaka limfoblastycznego, 1 (17%) z powodu chłoniaka Burkitta. U 5 z nich rozpoznano młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów (MIZS) (83%), u 1 toczень układowy rumieniowaty (SLE). U wszystkich stwierdzono obniżone składowe dopełniacza C3 i C4 i dodatnie przeciwciała przeciwjądrowe ANA, jednak bez obecności czynnika reumatoidalnego.

Wszyscy mieli zajęte stawy kolanowe, 2 dodatkowo stawy skokowe, a 1 przebieg wielostawowy. Nie obserwowano zmian skórnych ani narządowych. Dzieci z MIZS leczono niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi i metotreksatem, 2 także dostawowymi glikokortykosteroidami, a 1 z SLE glikokortykosteroidami doustnie. Nie obserwowano istotnych powikłań. Wszystkie dzieci osiągnęły remisję choroby.

Wyniki i wnioski: 1. Najczęstszą chorobą zapalną stawów u dzieci po leczeniu nowotworu jest młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów ANA (+). 2. Choroby te są częstsze u dziewczynek i obejmują głównie stawy kolanowe, bez zajęcia narządów wewnętrznych. 3. Choroby zapalne stawów obserwowane po leczeniu nowotworu dobrze odpowiadają na leczenie.

P17. OCENA WPŁYWU PRZEDTRANSPLANTACYJNEGO LECZENIA IMATYNIBEM NA ZAAWANSOWANIE PRZEWLEKŁEJ POSTACI CHOROBY PRZESZCZEP PRZECIWKO GOSPODARZOWI (GVHD) PO ALLOTRANSPLANTACJI KOMÓREK MACIERZYSTYCH – PORÓWNANIE DOROSŁYCH PACJENTÓW Z ALL PH- I ALL PH+

dr Jarosław Dybko¹, dr Agnieszka Piekarska²,
dr hab. Beata Jakubas³, dr Anna Łojko-Dankowska⁴,
dr hab. Lidia Gil⁴, dr Andrzej Frankiewicz⁵,
prof. Sebastian Giebel⁵, prof. Andrzej Tukiendorf⁶,
prof. Tomasz Wróbel⁷, dr Mateusz Sawicki⁷,
dr Anna Kopińska⁸, dr Tomasz Lonc⁹, dr hab. Anna Czyż⁴

¹Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

²Klinika Hematologii i Transplantologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

³Klinika Hematologii, *Collegium Medicum* Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

⁴Klinika Hematologii i Chorób Rozrostowych Układu Krwiotwórczego, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

⁵Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

⁶Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

⁷Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

⁸Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁹Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii, *Collegium Medicum* Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Wstęp: Allogeniczna transplantacja komórek macierzystych (alloHSCT) pozostaje podstawowym sposobem leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) u dorosłych. Imatynib, stosowany rutynowo przed i po

transplantacji w przypadkach Ph(+), jest również stosowany w leczeniu przewlekłej postaci choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GVHD), szczególnie z cechami włóknienia. W tym badaniu próbowaliśmy ustalić potencjalny wpływ imatynibu na występowanie i zaawansowanie GVHD po alloHSCT.

Cel: Ocena potencjalnego wpływu przedtransplantacyjnego leczenia imatynibem na zaawansowanie przewlekłej postaci GVHD.

Materiał i metody: Analizowano grupę 162 pacjentów z ALL, w tym 104 przypadki Ph(–) i 58 Ph(+), leczonych alloHSCT od zgodnego dawcy rodzinnego lub niespokrewnionego. Wszyscy pacjenci z grupy Ph(+) otrzymali imatynib i chemioterapię przed alloHSCT, z grupy Ph(–) chemioterapię. Mediana wieku w grupach Ph(–) i Ph(+) wynosiła odpowiednio 28 i 35 lat ($p = 0,04$), odsetek przeszczepień z niezgodnościami w HLA odpowiednio 4,3 i 19,2% ($p = 0,00004$), odsetek przypadków ostrej postaci GVHD – 48,4 i 76,9% ($p = 0,01$) oraz przypadków zaawansowanej przewlekłej postaci GVHD – 80,5 i 50,0%. Nie stwierdzono istotnej różnicy między grupami odnośnie płci, kondycjonowania RIC lub MAC, odsetka przeszczepień niespokrewnionych, wieku dawców, materiału transplantacyjnego PBSC/BM, liczby przeszczepionych komórek CD34 oraz występowania przewlekłej postaci GVHD. Wszyscy pacjenci otrzymali standardową profilaktykę GVHD opartą o CsA i Mtx.

Wyniki: Analiza regresji Cox'a wykazała, że występowanie zaawansowanej przewlekłej postaci GVHD było istotnie częstsze w grupie Ph(–) (stopa hazardu = 2,3; CI 95%: 1.02–5.18; $p = 0,04$). Wykonano analizę tzw. ryzyk współistniejących dla porównania odsetka zgonów z powodu GVHD i innych przyczyn (TRM, infekcja i wznowa choroby podstawowej). Wykazano istotną różnicę wpływu kondycjonowania (RIC/MAC) na śmiertelność spowodowaną innymi przyczynami niż GVHD ($p = 0,009$ vs $p = 0,234$). Nie znaleziono różnicy ryzyk współistniejących dla płci i wieku pacjentów, płci i wieku dawców, statusu CMV pacjentów, liczby przeszczepionych komórek CD34. Z drugiej strony wpływ występowania aGVHD i cGVHD na śmiertelność z innych przyczyn nie był istotny ($p = 0,242$ vs 0.147).

Wnioski: Przedstawione wyniki mają charakter wstępny i wymagają analizy wielu zmiennych, jednak sugerują pozytywny wpływ przedtransplantacyjnego stosowania imatynibu na ograniczenie zaawansowania przewlekłej postaci GVHD.

Introduction: Allogeneic hematopoietic stem cells transplantation (alloHSCT) has remained an essential approach in attempts to cure ALL. Imatinib routinely used for ALL Ph(+) pre-and posttransplant treatment is also described as an approach for chronic GVHD especially with fibrotic features. In this study we have tried to estimate the potential influence of pretransplant TKI on GVHD occurrence after alloHSCT.

Aim: To determine the influence of pretransplant imatinib on GVHD.

Material and methods: A cohort of 162 ALL patients consisted of 104 ALL Ph(–) and 58 ALL Ph(+) cases treated with alloHSCT was retrospectively analyzed. All patients were transplanted from sibling or unrelated donor. All Ph(+) patients achieved pretransplant treatment with imatinib and chemotherapy, and Ph(–) patients with chemotherapy alone. The median age in Ph(–) and Ph(+) group was 28 vs. 35 ($p = 0.04$), the percentage of HLA mismatched transplantations – 4.3 vs. 19.2 ($p = 0.00004$), the percentage of acute GvHD cases – 48.4 vs. 76.9 ($p = 0.01$) and extensive chronic GvHD cases – 80.5 vs. 50.0 respectively. There were no significant difference between groups in patients sex, RIC/MAC conditioning, unrelated/sibling donor, donors age, BM/PBPC transplantation, number of CD34 cells and chronic GvHD incidence. All patients received CsA and Mtx based GvHD prophylaxis.

Results: The incidence of acute GvHD was higher in Ph(+) group (higher number of HLA mismatched transplantations in this group) but the incidence of extensive chronic GvHD was higher in Ph(–) group. Cox proportional hazard model analysis revealed death risk caused by GvHD higher in Ph negative group (hazard ratio = 2.3; CI 95% = 1.02-5.18; $p = 0.04$). The analysis of competing events was performed to estimate the probability of death caused by GvHD vs other complications (transplant related mortality, infections and relapse). The impact of conditioning was not significant in GvHD related deaths vs other complications ($p = 0.234$ vs. 0.009, respectively). We have not found any significant difference either in GvHD or other complications related deaths taking into account patients sex/age, donor sex/age, patients CMV status, number of CD34 cells transplanted. On the other hand, the influence of aGvHD and chGvHD on deaths related to other complications was not significant ($p = 0.242$ vs. 0.147).

Conclusions: Our results are preliminary and variety of data is still to be evaluated. However these results, if confirmed, may suggest the influence of imatinib on decreasing the extensiveness of chronic GvHD.

TRANSPLANTACJE KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH 1 I 2

Plakaty

P1. ALOTRANSPLANTACJA KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH W LECZENIU PIERWOTNYCH CHŁONIAKÓW SKÓRY Z KOMÓREK T – DOŚWIADCZENIA WŁASNE

Włodzimierz Mendrek

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie
Oddział w Gliwicach

Wstęp: Pacjenci z zaawansowanymi postaciami pierwotnych chłoniaków skóry z komórek T (CTCL) przeżywają średnio 2–5 lat przy zastosowaniu konwencjonalnego leczenia chemioterapeutycznego. Próby wykorzystania autotransplantacji komórek krwiotwórczych nie przyniosły oczekiwanych rezultatów. Alogeniczne przeszczepienie komórek krwiotwórczych (alloHCT) wydaje się aktualnie jedyną metodą dającą szansę wyleczenia.

Materiał i metody: Jedenastu pacjentów z zaawansowanymi postaciami ziarniniaka grzybiastego ($n = 7$) lub zespołu Sezary'ego ($n = 4$) zostało poddanych alloHCT. Od rozpoznania do przeszczepienia upłynęło 1–7 lat (mediana 4). Wiek pacjentów wahał się w granicach 28–58 lat (mediana 44). Źródłem komórek macierzystych w każdym przypadku była krew obwodowa po stymulacji G-CSF. Dawcy komórek macierzystych: niespokrewniony w pełni zgodny w zakresie HLA ($n = 6$), rodzinny w pełni zgodny ($n = 4$), niespokrewniony nie w pełni zgodny ($n = 1$). Kondycjonowanie miało w większości charakter niemieloablacyjny: napromienienie skóry/globulina antytymocytowa/napromienienie układu chłonnego ($n = 8$), fludarabina (Flu)/melfalan ($n = 1$), napromienienie całego ciała (TBI) 2 Gy/Flu ($n = 1$), TBI 8 Gy/Flu ($n = 1$). W profilaktyce GvHD stosowano CsA/MMF ($n = 9$) lub CsA/Mtx ($n = 2$).

Wyniki: U wszystkich pacjentów uzyskano wszczepienie komórek dawcy – neutrofili $> 0,5$ G/l i płytek krwi > 50 G/l odpowiednio w dobach: 11. (9–16) i 12. (11–15). W trakcie procedury u żadnego z pacjentów nie wystąpiły objawy niepożądane stopnia 3. i 4. Nie odnotowano zgonów związanych z procedurą przeszczepową. Przy medianie czasu obserwacji równej 31 miesięcy trzech pacjentów zmarło w wyniku progresji choroby. Spośród 8 żyjących 6 znajduje się w fazie całkowitej remisji (1 wymagał przeprowadzenia DLI z powodu obniżenia chimeryzmu), u 1 doszło do progresji choroby z trwałą utratą wszczepu, u 1 – do progresji z zachowaniem chimeryzmu dawcy. Powikłania w formie ostrej GvHD obserwowano u 6 pacjentów, u 2 rozwinęło się przewlekłe GvHD o charakterze skórno-słuzówkowym. Prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od progresji

po 2 latach wyniosło 61% (SE $\pm$ 16%), a przeżycia całkowitego – 73% ($\pm$ 13%).

Wnioski: AlloHCT może stanowić opcję leczniczą dla pacjentów z zaawansowaną postacią CTCL. Metoda leczenia, przy zastosowaniu zindywidualizowanego protokołu kondycjonowania, jest względnie bezpieczna i jako jedyna oferuje szansę wyleczenia. Długotrwały efekt wymaga jednak oceny w toku dalszej obserwacji.

P2. AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION (AHSCT) FOR POOR-RISK SYSTEMIC SCLEROSIS (SSC)

prof. Grzegorz Helbig¹, dr Małgorzata Widuchowska²,
dr Anna Kocięga¹, dr Anna Kopińska¹,
dr hab. Małgorzata Krawczyk-Kuliś³,
dr Magdalena Kopeć-Mędrak², Władysław Gaweł⁴,
Adrianna Spatek⁴, Jakub Żak⁴,
dr Iwona Grygoruk-Wiśniowska¹, dr Robert Liwoch¹,
prof. Eugeniusz Kucharz²,
prof. Sławomira Kyrcc-Krzemien⁵,
prof. Mirosław Markiewicz¹

¹Medical School of Silesia, Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Silesian Medical University.

²School of Medicine in Katowice, Department of Rheumatology, Silesian Medical University, Katowice

³Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch

⁴Students' Research Group, School of Medicine in Katowice, Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Silesian Medical University, Katowice

⁵Teaching Public Hospital im. Mielęckiego, Silesian Medical University, Katowice

Introduction: Systemic sclerosis (SSc) is an autoimmune disease affecting skin and internal organs. Due to the lack of effective disease-modifying drugs, SSc was one of the first autoimmune disorders challenged with autologous hematopoietic stem cell transplantation (AHSCT).

Aim: To evaluate the long-term efficacy of AHSCT in patients with poor risk SSc.

Material and methods: We retrospectively assessed the results of AHSCT in 18 patients with SSc autografted in years 2003-2016. The following parameters were evaluated for efficacy before and 12 months after procedure: 1) cutaneous involvement using modified Rodnan skin score (mRss), 2) lung function measured by diffusing capacity of lung for carbon monoxide (DLCO) and forced vital capacity (FVC), and 3) cardiac function assessed by left ventricular ejection fraction (LVEF).

Results and conclusions: Study group consisted of 10 male and 8 female with median age of 52 years (range 24-68). Median disease duration from diagnosis to AHSCT was 14 months (range 2-85). Disease

pattern was diffuse in 14 pts, limited in 1 and unspecified in 3. The prior immunosuppressive treatment included methylprednisolone with cyclophosphamide ($n = 5$), cyclophosphamide alone ($n = 3$), methotrexate with cyclophosphamide ($n = 2$), methotrexate alone ($n = 2$) and combination of other agents ($n = 6$). The most common disease-related manifestations were Raynaud's phenomenon ($n = 16$) and pulmonary fibrosis ($n = 9$). Stem cells were mobilized with cyclophosphamide followed by G-CSF. Conditioning consisted of cyclophosphamide with alemtuzumab ($n = 11$), cyclophosphamide with ATG ($n = 4$), melphalan and alemtuzumab ($n = 2$) and cyclophosphamide alone ($n = 1$). All patients engrafted. The transplant-related mortality at 100 day was 22% ($n = 4$). 3 pts died of severe pneumonia with septic shock, one patient developed fatal myocardial infarction. After median follow-up of 47.5 months (range 0-95), 11 patients were alive. In this group mRss showed a significant reduction from the baseline at 12 months after transplant ($p < 0.01$). There was no significant change in lung function (measured by DLCO and FVC; $p = 0.62$ and $p = 0.37$ respectively) and LVEF ($p = 0.56$). During follow-up 5 patients had disease progression, however all patients required immunosuppressive treatment. AHSCT for SSc is associated with a significant transplant-related mortality and modest efficacy.

P3. DOSTĘPNOŚĆ DAWCÓW SZPIKU NA ETAPIE TYPIZACJI POTWIERDZAJĄCEJ ORAZ PROCEDURY WORK-UP. DANE WŁASNE FUNDACJI DKMS

lek. Tigran Torosian¹, Iwona Tomanek¹,
Anna Jarnicka¹, prof. dr hab. n. med. Sebastian Giebel²,
lek. Monika Grzegorek³,
prof. dr hab. n. med. Mieczysław Komarnicki⁴,
dr n. med. Emilian Snarski⁵, lek. Zbigniew Walter⁶,
dr hab. prof. nadzw. Tomasz Wróbel⁷,
dr n. med. Iwona Wyleżół⁸

¹Fundacja DKMS

²Oddział Transplantacji Szpiku, Centrum Onkologii, Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach, Gliwice

³Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

⁴Klinika Hematologii i Chorób Rozrostowych Układu Krwiotwórczego, Szpital Kliniczny Przemienienia Pańskiego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego, Poznań

⁵Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

⁶Pracownia Separacji Krwinek i Bank Komórek Krwiotwórczych Kliniki Hematologii Szpitala Uniwersyteckiego, Kraków

⁷Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 1, Wrocław

⁸Centrum Medyczne Damiana, Warszawa

Wstęp: Aspekt dostępności dawców jest jednym z kluczowych elementów podlegających dyskusji we wszystkich rejestrach i ośrodkach dawców szpiku ze względu na bezpośredni wpływ na transplantację. Ośrodek Dawców Szpiku (ODS) w okresie 01.01.2008 r. – 30.04.2017 r. zarejestrował 1 104 132 dawców szpiku. W tym czasie przeprowadzono 4220 procedury pobrania komórek macierzystych od rzeczywistych dawców. Dostępność zarejestrowanych dawców jest monitorowana na różnych etapach.

Cel: Analiza przyczyn niedostępności dawców na etapach typizacji potwierdzającej (CT) oraz koordynacji procedury pobrania (*work-up*).

Materiał i metody: Na etapie CT dawcy są pytani o gotowość oraz dostępność do procedury pobrania szpiku. W przypadku braku możliwości uczestnictwa w procedurze dawcy otrzymują następujące statusy: tymczasowo niedostępny (TU), wykluczony z powodów medycznych (DD), niezainteresowany (NI), brak kontaktu (UC). Niektóre przypadki niedostępności są tematem indywidualnych rozważań. Niedostępność TU została podzielona na poszczególne grupy w zależności od przyczyny. Na etapie WU dawcy ponownie są sprawdzani pod względem dostępności, w przypadku braku możliwości wzięcia udziału w procedurze przysyła się te same statusy jak w przypadku procedury CT. Medyczne powody TU uwzględniają przede wszystkim ryzyko dla dawcy. W przypadkach ewentualnego ryzyka dla biorcy brana jest pod uwagę opinia ośrodka transplantacyjnego (OT).

Wyniki: Niedostępność na etapie CT wynosi średnio 27,1%. Obserwujemy nieznaczny wzrost procentowy wprost proporcjonalnie do rosnącej liczby zarejestrowanych dawców oraz zapytań o typizację. Średnie wartości TU wynoszą 20,3%, DD 4,1%, NI 2,3%, UC 0,4%. Analiza przyczyn TU wykazuje, że najczęstszą przyczyną jest wyjazd dawcy poza Polskę (21,5%), ciąża (20,7%) lub przyczyny osobiste (13,3%). Procedury WU w 74% przypadkach kończą się pobraniem komórek, w 11,5% są anulowane z powodów zależnych od dawcy, a 14,5% jest odwołanych przez OT. Analiza niedostępności dawców wykazuje: TU 8%, DD 1,2%, NI 2%, UC 0,3%. Odnotowaliśmy jeden przypadek, kiedy dawca nie zgłosił się na pobranie komórek, podczas gdy przebieg procedury CT i WU był prawidłowy.

Wnioski: Główna przyczyna niedostępności dawców na etapie CT i WU ma charakter tymczasowy. Na etapie WU są to głównie przyczyny medyczne trudne do wykrycia przed badaniem wstępnym. Niedostępność z powodu rezygnacji (NI i UC) jest niska.

Introduction: Bone marrow donors availability is one of the key issues discussed in all registries and donor centers (DC) because of the direct impact on the transplantation. Our DC has registered 1 104 132 potential bone marrow donors between 1 January 2008 and 30 April 2017. During this time 4220 stem cell collections have been performed. The availability of registered donors is monitored at different levels.

Aim: Analysis of the donors unavailability reasons during the confirmatory typing (CT) and coordination of the work-up procedure.

Material and methods: At the CT level, donors are asked about the willingness and availability for bone marrow donation. In case of unavailability, the donors receive the following statuses: temporarily unavailable (TU), donor deferred (DD), not interested (NI), unable to contact (UC). Some cases of unavailabilities are the subject of individual considerations. TU unavailability has been divided into groups according to the reason. At the WU level, the donors are again asked for their accessibility. If they are not able to participate in the procedure, the same statuses are given, similarly to the CT procedure. The medical reasons for donors TU include primarily the donor risk. In cases of the possible patient risk, the opinion of the transplant center (TC) is taken into account.

Results: The average donor unavailability at the CT level is 27.1%. There is a slight unavailability increase respectively to the growing number of registered donors. TU values averaged 20.3%, DD 4.1%, NI 2.3%, UC 0.4%. TU analysis shows that the most common reason is the donor's emigration (21.5%), pregnancy (20.7%) or personal reasons (13.3%). The WU procedures end up with the cell collection in 74% cases. In 11.5% WU is canceled because of donor-related reasons, and 14.5% are canceled by the TC. The donor unavailability analysis shows: TU 8%, DD 1.2%, NI 2%, UC 0.3%. In one case the donor did not show up at the collection center on the day of procedure, while nothing was alarming at the CT and WU procedures level.

Conclusions: The main causes of donors unavailability at CT and WU levels have temporary character. At the WU level these are mainly medical issues, which are difficult to reveal before the physical examination. The resignation from the donation (NI and UC) remains at low level.

P4. ZASTOSOWANIE U DOROSŁYCH PACJENTÓW KOMÓREK MACIERZYSTYCH POZYSKANYCH PRZES POLSKI BANK KOMÓREK MACIERZYSTYCH (GRUPA FAMICORD)

dr n. med. Dariusz Boruckowski¹,
mgr Iwona Marszałek¹, lek. med. Karol Kosterna¹,
mgr Anna Mucha¹, dr n. med. Katarzyna Pawelec²

¹Polski Bank Komórek Macierzystych, Warszawa

²Katedra i Klinika Pediatrii Hematologii i Onkologii,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Krwiotwórcze komórki macierzyste (KKM) są w Polsce już od 1 grudnia 1989 r. standardowo wykorzystywane w dziecięcej hematologii i onkologii. Nato-

miast mezenchymalne komórki macierzyste (MKM) są stosowane w procedurze medycznego eksperymentu leczniczego u dzieci w Polsce od października 2011 r.

Cel: Celem pracy jest przedstawienie dotychczasowych zastosowań KKM oraz MKM pochodzących z banku komórek macierzystych u pacjentów dorosłych.

Materiał i metody: Od marca 2007 r. do marca 2017 r. tylko w jednym banku komórek macierzystych zostały przygotowane preparaty dla 618 dorosłych pacjentów. Przygotowane i wydane komórki pochodziły z czterech źródeł: galareta Whartona (318 preparaty produktu leczniczego), szpik (32 preparatów zawierających KKM), krew obwodowa po farmakologicznej mobilizacji (250 preparatów KKM) oraz preparaty służące do infuzji limfocytów dawcy (18 – DLI – *donor lymphocyte infusion*).

Wyniki i wnioski: Produkt leczniczy zawierający MKM z galarety Whartona (318 preparaty) był stosowany w Polsce najczęściej w neurologii (214), okulistyce (54), ortopedii (50) i ginekologii (4). W transplantologii głównym wskazaniem była choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi GvHD (6 pacjentów). Niestety to razem 334 preparaty. Pozyskane od dawcy niespokrewnionego KKM ze szpiku – 32 preparaty, zastosowane w 14 krajach Europy i świata, wykorzystane były najczęściej do przeszczepienia u pacjentów z ostrymi białaczkami nieлимfoblastycznymi – AML (24). Ostre białaczki były też najczęstszym wskazaniem do podania KKM z krwi obwodowej po farmakologicznej mobilizacji. 285 preparatów, w tym 107 AML, 32 ALL i 111 w innych chorobach hematologicznych, jak również DLI (18 preparaty), wykorzystano głównie w przypadkach AML (6) i zespołu mielodysplastycznego (12). Komórki macierzyste różnego rodzaju mają zastosowanie zarówno w terapiach standardowych w hematologii, jak również w medycznych eksperymentach leczniczych w medycynie regeneracyjnej.

Wstęp: Pacjenci z chorobami hematologicznymi, którzy otrzymali przeszczep krwiotwórczych komórek macierzystych od niespokrewnionego dawcy niezgodnego w zakresie HLA oraz z dwoma niezgodnymi haplotypami (Ehp), są bardziej narażeni na ciężką GvHD i zwiększoną śmiertelność.

Cel: W ciągu ostatnich 15 lat liczba potencjalnych niespokrewnionych dawców szpiku zarejestrowanych w światowej bazie BMDW wzrosła z 8 mln potencjalnych dawców zarejestrowanych na koniec 2002 r. do ponad 29 mln dawców w 2016 r. Prawie czterokrotny wzrost liczby zarejestrowanych dawców szpiku w zasobach BMDW może oznaczać większe szanse na znalezienie dawcy o wyższym poziomie zgodności antygenowej i haplotypowej dla polskich biorców.

Materiał i metody: Analizie poddano grupę 58 krajowych pacjentów wysokiego ryzyka, dla których w wyniku procedur poszukiwania i doboru niespokrewnionego dawcy szpiku dobrano i zaakceptowano do transplantacji dawcę z 2 niezgodnymi szerokimi haplotypami MHC, w tym z jedną, dwoma lub trzema niezgodnościami HLA. Procedury doboru dawcy dla ww. biorców prowadzono w latach 2002–2011. W listopadzie 2016 r. dokonano ponownego przeglądu i analizy wyników przeszukania światowej bazy dawców szpiku BMDW dla tej samej grupy 58 pacjentów.

Wyniki: Średni czas od transplantacji do ponownej analizy wyników wynosił 10,5 r. (4,5–15,5). Dla 38 (65,5%) chorych wysokiego ryzyka znaleziono dawcę w pełni zgodnego (zgodność obu szerokich haplotypów MHC oraz 10/10 antygenów HLA), przy czym 68,5% zgodnych dawców stanowili dawcy z polskiego rejestru, a więc o lepszych walorach w zakresie logistyki pozyskania materiału przeszczepowego. Łącznie dla 53 biorców (91,4%) znaleziono dawcę o mniejszej liczbie niezgodnych szerokich haplotypów MHC oraz równym lub wyższym poziomie zgodności pod względem HLA. Spośród dawców z raportowaną pojedynczą niezgodnością antygenową (9/10) dostępnych w rejestrach największy odsetek dawców był niezgodny z chorym w zakresie locus A (96,2%), B (81,1%) lub C (77,3%), a tylko 34% w locus DQB1. Wskazuje to na możliwość wyboru dawcy z niezgodnością permissywną w aktualnym przeglądzie BMDW.

Wnioski: Z przeprowadzonej analizy wynika, że wraz z rozwojem zasobów światowej bazy dawców BMDW oraz rejestru krajowego zwiększa się szansa na dobór optymalnego niespokrewnionego dawcy komórek krwiotwórczych oraz na uniknięcie transplantacji od dawców z niezgodnością dwóch szerokich haplotypów MHC stanowiących wysokie ryzyko wystąpienia ostrej i przewlekłej GvHD wysokiego stopnia oraz wysokiej umieralności biorców.

P5. WZROST LICZBY POTENCJALNYCH NIESPOKREWNIONYCH DAWCÓW SZPIKU ZAREJESTROWANYCH W ŚWIATOWEJ BAZIE BMDW SZANSĄ NA ZNALEZIECIE DAWCY O WYŻSZYM POZIOMIE ZGODNOŚCI ANTYPGENOWEJ I HAPLOTYPOWEJ

mgr Klaudia Nestorowicz^{1,2},
mgr Sławomir Gwozdowicz¹,
mgr Elżbieta Graczyk-Pol¹, mgr Marta Rogatko-Koroś¹,
mgr Aleksandra Drapała¹, mgr Daria Pawliczak¹,
mgr Marta Zubala¹, mgr Joanna Dziopa¹,
mgr Renata Mika-Witkowska¹, mgr Urszula Szlendak¹,
prof. Jacek Nowak¹, mgr Klaudia Nestorowicz^{1,2}

¹Zakład Immunogenetyki, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

²Centrum Organizacyjno-Koordynacyjne do spraw Transplantacji Poltransplant, Warszawa

P6. NIEDOSTĘPNOŚĆ NIESPOKREWNIONYCH DAWCÓW KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH W KRAJOWYM I ZAGRANICZNYCH REJESTRACH A CZAS REALIZACJI PROCEDUR POSZUKIWANIA I DOBORU DAWCÓW

mgr Sławomir Gwozdowicz¹, mgr Elżbieta Graczyk-Pol¹,
mgr Marta Rogatko-Koroś¹, mgr Aleksandra Drapała¹,
mgr Daria Pawliczak¹, mgr Marta Zubala¹,
mgr Joanna Dziopa¹, mgr Renata Mika-Witkowska¹,
dr Urszula Szlendak¹, prof. Jacek Nowak¹,
mgr Klaudia Nestorowicz^{1,2}

¹Zakład Immunogenetyki, Instytut Hematologii
i Transfuzjologii, Warszawa

²Centrum Organizacyjno-Koordynacyjne do spraw
Transplantacji Poltransplant, Warszawa

Wstęp: Czas upływający między rozpoznaniem choroby a wykonaniem transplantacji komórek krwiotwórczych powinien być możliwie krótki ze względu na znacznie pogarszające się wyniki w przypadku wykonania transplantacji w nieoptymalnej fazie choroby.

Cel: W związku z zaobserwowaną zwiększoną w stosunku do lat poprzednich niedostępnością dawców niespokrewnionych aktywowanych w ramach procedur doboru analizie poddano 65 procedur poszukiwania i doboru dawcy niespokrewnionego zleconych w 2017 r. do realizacji w Pracowni Doboru Dawców Komórek Krwiotwórczych, zakończonych doborem dawcy niespokrewnionego.

Materiał i metody: Analizie poddano dostępność dawców na etapie sprowadzenia próbki krwi z wyłączeniem dawców, u których zlecono badania uzupełniające. Określono również czas realizacji procedur, począwszy od otrzymania zlecenia z Centrum Organizacyjno-Koordynacyjnego ds. Transplantacji Poltransplant do proponowania wyselekcjonowanego dawcy w ośrodku transplantacyjnym.

Wyniki: W 18 (27,7%) spośród 65 procedur nie odnotowano niedostępności żadnego z dawców, od których zamówiono próbkę krwi na badania weryfikacyjne, w przypadku 47 procedur (72,3%) ośrodki dawców raportowały niedostępność od 1 do 7 dawców w ramach jednej procedury (Me = 1, =1,3). Za niedostępność dawcy do procedury przyjęto dyskwalifikację z powodów osobistych lub względów medycznych oraz brak kontaktu z dawcą. Dla 65 chorych zamówiono łącznie próbki krwi od 177 dawców, w tym 103 (58,2%) od dawców z rejestru krajowego i 74 (41,8%) od dawców z rejestrów zagranicznych. Dyskwalifikacja objęła 58 (56,3%) spośród 103 dawców krajowych oraz 26 (35,1%) z 74 dawców z zagranicznych rejestrów ($p = 0,006$, OR = 2,38, 95% CI: 1,29–4,41). Niedostępny jest średnio co drugi polski dawca oraz co trzeci dawca z rejestrów zagranicznych.

Wnioski: Zauważalnie zwiększona w ostatnim okresie niedostępność dawców, a co za tym idzie dłuższe okresy oczekiwania na próbkę krwi dostępną dawcy

przekładają się na wydłużony czas realizacji procedur doboru z 36,8 dnia (21–56) dla procedur, podczas których nie odnotowano niedostępności żadnego z dawców, do 43 dni (19–136) w przypadku procedur, w których ośrodki dawców raportowały niedostępność co najmniej jednego dawcy.

P7. TRUDNOŚCI W OKREŚLANIU GRUPY KRWI I DOBRANIU SKŁADNIKÓW KRWI U PACJENTÓW PODDANYCH KILKAKROTNYM PRZESZCZEPNIENIOM KRWIOTWÓRCZYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH

mgr Lucyna Pawelec-Marzec,
dr Małgorzata Szymczyk-Nużka

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa
we Wrocławiu

Wstęp: Na drugi i kolejny przeszczep krwiotwórczych komórek macierzystych (KKM) narażeni są pacjenci, u których nie wystąpił oczekiwany efekt terapeutyczny. W związku z nieodwracalnym uszkodzeniem szpiku otrzymują oni liczne transfuzje, a obecność krwinek autologicznych dawcy pierwszego, dawcy kolejnego KKM oraz dawców krwi stwarza problemy z doborem składników krwi.

Cel: Analiza wyników badań immunohematologicznych celem zapewnienia bezpiecznych składników krwi do transfuzji dla biorców KKM.

Materiał i metody: Pacjenci poddani wielokrotnym transplantacjom KKM w latach 2011–2017. Metodą mikrokolumnową wykonywano: oznaczenie grupy krwi w układzie ABO, fenotyp w układzie Rh, antygen K z układu Kell, skryning przeciwciał odpornościowych oraz identyfikację przeciwciał odpornościowych w PTA, BTA, miano przeciwciał z układu ABO klasy IgM i IgG.

Wyniki: Badania immunohematologiczne u biorców KKM pomiędzy kolejnymi przeszczepieniami pozwoliły stwierdzić występowanie chimeryzmu całkowitego lub mieszanego w grupie krwi, a także obserwować dynamikę zmian przeciwciał (zanikanie przeciwciał biorcy lub pojawienie się przeciwciał dawcy) mogących powodować wzmożoną hemolizę. W badaniach immunologicznych u pacjentów, po zmianie grupy krwi na grupę dawcy, pomiędzy kolejnymi przeszczepieniami nie stwierdzono antygenów biorcy (powrót do grupy krwi przed przeszczepieniem) ani przeciwciał mogących pochodzić z komórek biorcy.

Wnioski: Śledzenie chimeryzmu w zakresie antygenów krwinek czerwonych oraz chimeryzmu w komórkach jądrzastych pomiędzy kolejnymi transplantacjami komórek macierzystych pozwala na dobranie odpowiednich składników krwi do transfuzji. Wznowa choroby podstawowej czy utrzymujący się chimeryzm

autologiczny w komórkach jądrzastych nie jest równoznaczny z powrotem do grupy krwi pacjenta sprzed przeszczepienia. Szczegółnej analizie należy poddawać pacjentów z aplazją szpiku otrzymujących liczne transfuzje KKCz, aby wykluczyć sytuację, gdy wynik badania immunohematologicznego jest wynikiem dawcy krwi. Przy jednakowych grupach krwi w ABO i Rh oznaczanie antygenów, które rozróżniają biorcę od dawcy, pozwala jednoznacznie określić, czy mamy do czynienia z chimeryzmem całkowitym lub mieszanym, a także czy produkowane krwinki czerwone posiadają fenotyp dawcy KKM.

P8. OCENA WYBRANEGO PROFILU CYTOKIN U PACJENTÓW ZE STWARDNIENIEM ROZSIANYM (MS) PODDAWANYCH PROCEDURZE AUTOLOGICZNEGO PRZESZCZEPIENIA KRWIOTWÓRCZYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH (AHSCT) – WSTĘPNE WYNIKI 2-LETNIEJ OBSERWACJI

**lek. Karolina Chromik¹,
prof. dr hab. n. med. Grzegorz Helbig¹,
dr n. med. Marek Śmiłowski²,
dr n. med. Lech Szczechowski³,
prof. dr hab. n. med. Sławomira Kyrzcz-Krzemiń¹,
dr hab. n. med. Tomasz Francuz⁴,
dr n. med. Anna Kocięga¹, dr n. med. Anna Kopińska¹,
lek. Robert Liwoch¹,
dr n. med. Agata Wieczorkiewicz-Kabut¹**

¹Oddział Hematologii i Transplantacji Szpiku, Wydział Lekarski, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice

²Katedra i Klinika Neurologii, Wydział Lekarski, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice

³Wielospecjalistyczna Poradnia Lekarska „Synapsis” w Katowicach

⁴Katedra i Zakład Biochemii, Wydział Lekarski, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice

Wstęp: Stwardnienie rozsiane jest najczęstszą chorobą zapalno-demielinizacyjną ośrodkowego układu nerwowego (OUN), w której reakcja T-zależna układu immunologicznego skierowana jest przeciwko mielinie, oligodendrocytom oraz aksonom. Wytworzone cytokiny i chemokiny prozapalne powodują uszkodzenie mielin i zmniejszenie liczby oligodendrocytów. Procedura AHSCT z zastosowaniem globuliny antytymocytarnej prowadzi do zmniejszenia liczby limfocytów produkujących cytokiny prozapalne.

Cel: 1. Analiza zmian stężeń wybranych cytokin na różnych etapach AHSCT u chorych z MS zakwalifikowanych do procedury AHSCT. 2. Ocena bezpieczeństwa mobilizacji i przeszczepienia autologicznych komórek macierzystych u pacjentów z MS.

Materiał i metody: Do badania włączono 24 pacjentów z MS poddanych AHSCT z powodu rzutowo-remitującej postaci MS. Kwalifikację chorych do transplantacji

przeprowadzono w oparciu o kryteria EBMT. Dokonano oceny stężenia w surowicy cytokin prozapalnych (IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF- α , IFN- γ) oraz przeciwzapalnych (IL-4, IL-10, TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) za pomocą komercyjnych testów ELISA w następujących punktach czasowych: dzień przed mobilizacją, dzień przed przeszczepem i w +15. dobie po AHSCT.

Wyniki: Wstępnej analizie poddano 24 pacjentów (K/M: 13/11) w medianie wieku 36 lat. Mediana czasu trwania choroby do momentu AHSCT wynosiła 7 lat (zakres 1–22). Mediana wcześniejszych linii leczenia wyniosła 1,5 (zakres 1–2). Mobilizację komórek macierzystych przeprowadzono z zastosowaniem cyklofosfamid i G-CSF. W kondycjonowaniu zastosowano cyklofosfamid i ATG. Mediana czasu wszczepu dla ANC > 0,5 G/L wynosiła 9 dni (zakres 6–13), dla WBC > 1 G/L 9 dni (zakres 6–13), dla PLT > 20 G/L 5,5 dnia (zakres 0–12), dla PLT > 50 G/L 8,5 dnia (zakres 0–13). Stężenie prozapalnej cytokiny IL-1 β w +15. dobie po przeszczepie uległo zmniejszeniu. Różnice stężeń pozostałych cytokin pozostawały nieistotne statystycznie. Powikłania pobytu przeszczepowego wystąpiły u 14 pacjentów (N = 14; 58%), głównie w postaci gorączek neutropenicznych (N = 7; 29%). Nie stwierdzono powikłań śmiertelnych.

Wnioski: 1. Wykonanie AHSCT może wiązać się ze zmniejszeniem reakcji prozapalnej, ale konieczna jest większa liczba chorych celem wyciągnięcia wniosków. 2. Procedura mobilizacji i AHSCT u pacjentów z MS jest bezpieczna.

P9. OCENA ZNACZENIA PROGNOSTYCZNEGO ZMIAN CYTOGENETYCZNYCH U PACJENTÓW PO ALLOTRANSPLANTACJI KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH Z POWODU NOWOTWORÓW MIELOIDALNYCH – ANALIZA JEDNOOŚRODKOWA

**dr Ewa Karakulska-Prystupiuł¹,
mgr Agnieszka Stefaniak²,
dr Joanna Drozd-Sokołowska¹,
dr Monika Paluszewska¹, dr Krzysztof Mądry¹,
dr Piotr Boguradzki¹, dr hab. Grzegorz Basak¹,
prof. dr hab. Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek¹**

¹Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych SP CSK w Warszawie

²Pracownia Cytoogenetyki, Zakład Patologii Wieku Rozwojowego SPDSK w Warszawie

Wstęp: Badanie cytogenetyczne wykrywa istotne aberracje o znaczeniu prognostycznym u połowy chorych na nowotwory mieloidalne i jest podstawą kwalifikacji do transplantacji. Najczęstszą przyczyną niepowodzeń allo-HCT jest nawrót choroby. Poszukiwane

są metody oceny nawrotu po przeszczepieniu, które stanowiłyby kryterium włączenia do leczenia konsolidującego.

Cel: Ocena wyników allotransplantacji komórek krwiotwórczych u chorych na nowotwory mieloidalne w zależności od aberracji chromosomalnych.

Materiał i metody: Analizowano retrospektywnie 88 chorych na nowotwory mieloidalne (AML – 61, MDS – 22, CMML – 4, PMF – 1) po allo-HCT w latach 2012–2017 od dawcy niespokrewnionego – 66 lub rodzinnego – 22, po kondycjonowaniu MAC 60 chorych lub RIC – 28, u których przed i po allo-HCT uzyskano wynik badania kariotypu. Do kolejnego zabiegu allo-HCT zakwalifikowano 9 chorych (2 – niewydolność przeszczepu, 7 – nawrót). Analizę cytogenetyczną wykonywano z komórek szpiku lub krwi pacjentów, z których zakładano hodowlę 24-godziną niestymulowaną. Chromosomy barwiono klasyczną metodą prążkową GTG i CBG. Do badań cytogenetycznych molekularnych wykorzystywano technikę FISH. Liczba analizowanych komórek przekraczała wytyczne ECA. Kwalifikację do grup ryzyka prowadzono wg ELN 2017 i IPSS-R 2012.

Wyniki: Wśród zakwalifikowanych do allo-HCT chorych na AML i CMML: 6 chorych miało korzystne zmiany cytogenetyczne, 39 – pośredniego ryzyka, 17 – niekorzystne (5 – kariotyp złożony). Przeżycie 2-letnie (2y OS) wynosiło odpowiednio: 78%, 82%, 63%. Wśród chorych na MDS stwierdzono: kariotyp dobry – 8, zły – 13 chorych (2y OS: 75% i 35%). Nawrót choroby (19 chorych) po allo-HCT rozpoznano u 30% chorych z wyjściowo niekorzystnym kariotypem, 15% – pośrednim i 28% – korzystnym. U 82% chorych z nawrotem zaobserwowano nowe aberracje (2y OS: 33%), w tym u 4 – kariotyp złożony (2y OS: 0%). Z powodu nawrotu i powikłań infekcyjnych zmarło łącznie 25 chorych, w tym 47% osób z wyjściowo niekorzystnym kariotypem, 15% – pośrednim i 36% – korzystnym. U 11 chorych (12,5%) (8 kariotyp niekorzystny, 3 – pośredni) wykazano w analizie FISH chorobę resztkową i leczono azacytydyną (+/– DLI) z efektem CR – u 5 i stabilizacji – 3 chorych.

Wnioski: Zmiany kariotypu u chorych na nowotwory mieloidalne mogą ulegać ewolucji cytogenetycznej po allo-HCT, a ich wykrycie ułatwia ocenę ryzyka i śmiertelności. Jedną z metod oceny nawrotu po transplantacji może być analiza FISH z oceną ponadstandardowej liczby komórek dla każdej próbki.

P10. SKUTECZNOŚĆ MOBILIZACJI KOMÓREK MACIERZYSTYCH SZPIKU U PACJENTÓW ZE SZPICZAKIEM PLAZMOCYTOWYM

Aleksandra Bogucka-Fedorczuk, Justyna Rybka, Magdalena Laszkowska-Lewko, Mateusz Sawicki, Katarzyna Wicherska-Pawłowska, Iwona Prajs, Kazimierz Kuliczkowski, Tomasz Wróbel

Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Wstęp: Szpiczak plazmocytowy (MM) charakteryzuje się monoklonalną proliferacją komórek plazmocytowych. Autologiczne przeszczepienie komórek macierzystych szpiku poprzedzone wysokodawkową chemioterapią stanowi standard postępowania u chorych z MM, którzy uzyskali remisję choroby. Skuteczność mobilizacji komórek macierzystych różni się u poszczególnych pacjentów.

Cel: Celem pracy była analiza skuteczności mobilizacji komórek macierzystych szpiku u pacjentów z MM.

Materiał i metody: Badaniem objęto 86 chorych z MM (35 kobiet i 51 mężczyzn). Mediana wieku pacjentów wynosiła 57 lat (zakres: 37–67). U 9 chorych rozpoznano FLD, u 61 MM IgG, u 15 MM IgA, u 1 guz plazmatycznokomórkowy kręgosłupa. 45 pacjentów otrzymało cytarabinę + G-CSF, 35 cyklofosfamid + G-CSF, 6 tylko G-CSF. W 13 przypadkach przeprowadzono kolejną mobilizację. Komórki macierzyste separowane były z krwi obwodowej za pomocą aferezy przy użyciu Spectra Optia® Apheresis System. Ilość CD34+ oceniano cytometrią przepływową. Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą programu STATISTICA 12. Wyniki z wartością $p < 0,05$ były istotne statystycznie.

Wyniki: Czas podawania G-CSF wynosił średnio 7 dni (zakres: 2–13 dni). Mediana ilości uzyskanych CD34+ wynosiła $6,9$ (zakres: $1,21$ – $17,89$) $\times 10^6/\text{kg}$ m.c. 88,4% mobilizacji było skutecznych. W 10 przypadkach mobilizacja zakończyła się niepowodzeniem. Większość pacjentów, u których nie uzyskano odpowiedniej ilości komórek CD34+, było leczonych za pomocą co najmniej 2 linii chemioterapii indukcyjnej. U 30 pacjentów po 2 i więcej schematach indukcji mediana liczby komórek CD34+ we krwi obwodowej była istotnie niższa niż u chorych po 1 linii leczenia ($6,84 \pm 5,37$ vs $8,75 \pm 6,74$) ($p < 0,05$). Nasze badania wykazały, że u kobiet średnia ilość komórek macierzystych była istotnie wyższa niż u mężczyzn ($7,68 \pm 5,09 \times 10^6/\text{kg}$ vs $6,31 \pm 5,4 \times 10^6/\text{kg}$) ($p < 0,05$). U pacjentów z ISS II–III liczba komórek macierzystych była niższa niż u chorych z ISS I ($7,37 \pm 4,21 \times 10^6/\text{kg}$ vs $8,74 \pm 6,17 \times 10^6/\text{kg}$) ($p < 0,05$). Mediana ilości komórek CD34+ była istotnie wyższa po zastosowaniu w mobilizacji cytarabiny + G-CSF niż cyklofosfamidu + G-CSF ($9,87 \pm 6,91$ vs $6,95 \pm 5,27$) ($p < 0,05$). Nie stwierdzono natomiast korelacji pomiędzy skutecznością mobilizacji a wiekiem, podtypem MM, poziomem FLC.

Wnioski: Wyniki badań sugerują, że płeć, ISS i schemat chemioterapii mobilizacyjnej mogą wpływać na efektywność mobilizacji u pacjentów z MM. Obserwacja ta wymaga potwierdzenia w większej grupie chorych z MM.

Introduction: Multiple myeloma (MM) is characterized by monoclonal proliferation of plasma cells. High-dose chemotherapy with autologous stem cells transplantation is the standard of treatment for patients with MM, who achieved remission. The efficiency of hematopoietic stem cell mobilization varies between patients.

Aim: The aim of this study was to analyze the efficacy of stem cell mobilization in patients with MM.

Material and methods: 86 patients with MM were evaluated (35 females and 51 males). The median age of patients was 57 years (range: 37-67). There were 9 patients with FLD, 61 with MM IgG, 15 with MM IgA, 1 with plasmocytoma. 45 patients received cytarabine+G-CSF as mobilization chemotherapy, 35 patients received cyclophosphamide + G-CSF and 6 patients received G-CSF alone. In 13 cases second mobilization was performed because of small amount of stem cells. The stem cells were separated from peripheral blood by apheresis using Spectra Optia® Apheresis System. Number of CD34+ was measured by flow cytometry. Statistical analysis was conducted using statistical software STATISTICA 12. The results at the level of $p < 0.05$ were accepted as statistically significant.

Results: Median duration of G-CSF administration was 7 days (range: 2-13). The median CD34+ cells harvested was 6.9 (range: $1.21-17.89$) $\times 10^6$ /kg BW, successful mobilization rate was 88.4%. Mobilization failure was reported in 10 cases. Most of patients with mobilization failure were treated with more than one line of induction chemotherapy (60%). In 30 patients, who received two and more induction chemotherapy regimens, the median peripheral CD34+ cell count was lower than in group of patients after one induction regimen (6.84 ± 5.37 vs. 8.75 ± 6.74) ($p < 0.05$). We found that median stem cells collected in women was significantly higher than in men ($7.68 \pm 5.09 \times 10^6$ kg vs. $6.31 \pm 5.4 \times 10^6$ kg) ($p < 0.05$). In patients with ISS II-III the collection result was lower than in patients with ISS I ($7.37 \pm 4.21 \times 10^6$ /kg vs. $8.74 \pm 6.17 \times 10^6$ /kg) ($p < 0.05$). The median count of CD34+ cells was significantly higher in patients after cytarabine + G-CSF regimen than in patients after mobilization with cyclophosphamide (9.87 ± 6.91 vs. 6.95 ± 5.27) ($p < 0.05$). We found no correlation between age, subtype of MM, FLC level and successful collection rate.

Conclusions: Our analysis showed that gender, ISS and mobilization regimen could affect peripheral blood stem cell collection in MM patients. However this observation should be validated by larger study.

P11. DŁUGOTERMINOWE PRZECHOWYWANIE KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH W PARACH CIEKŁEGO AZOTU – WPŁYW CZASU NA ICH PARAMETRY JAKOŚCIOWE

mgr inż. Agnieszka Kubiak, Katarzyna Kozaczyk,
dr Ewa Bembnista, mgr Paula Matuszak,
mgr Ewa Maćkowiak,
dr hab. n. med. Maria Kozłowska-Skrzypczak

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku,
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Wstęp: Krioprezervacja jest jednym z istotnych etapów bankowania, który daje możliwość wykorzystania preparatów krwiotwórczych komórek macierzystych (KKM) w czasie znacznie oddalonym od ich pozyskania. Dla zachowania wymaganych parametrów jakościowych przeszczepu KKM niezbędne jest przestrzeganie odpowiednich warunków.

Cel: Analiza wpływu czasu przechowywania w parach ciekłego azotu pozyskanych z mobilizowanej krwi obwodowej preparatów autologicznych (auto-KKM) i allogenicznych (allo-KKM) komórek krwiotwórczych na parametry jakościowe.

Materiał i metody: Ocenie poddano próby kontrolne KKM (31 auto-KKM oraz 31 allo KKM), krioprezwowane oraz przechowywane łącznie z materiałem transplantacyjnym (w temperaturze ok. -156°C). Badany materiał podzielono na 3 grupy względem czasu przechowywania (grupa I – do 3 miesięcy; II – 3 miesiące do 3 lat; III – powyżej 3 lat). Po rozmrożeniu prób oceniano żywotność: komórek jądrowych (KJ) – mikroskopowo w teście z błękitem trypanu, komórek CD34+ – cytometrycznie z zastosowaniem 7-aminoaktynomycyny D oraz analizowano potencjał proliferacyjny ukierunkowanych prekursorów granulocytarno-monocytowych (liczba CFU-GM/ 10^5 KJ) w hodowli *in vitro*. Analizę statystyczną przeprowadzono w programie STATISTICA.

Wyniki: Nie wykazano istotnych statystycznie różnic analizowanych parametrów pomiędzy próbami KKM ($p > 0,05$) w badanych grupach czasowych. Uzyskane wyniki wskazują na wyższą medianę liczby CFU-GM/ 10^5 KJ materiału auto-KKM w grupach prób przechowywanych ponad 3 miesiące. Dla II i III grupy auto-KKM wartości te wynosiły odpowiednio: 228 oraz 171, a dla allo-KKM 267 oraz 197. Zaobserwowano również wyższe wartości mediany odsetka żywotności komórek CD34+ w materiale auto-KKM we wszystkich grupach czasowych. Dla auto-KKM wynoszą one odpowiednio w grupach: I – 97,85; II – 98,40; III – 97,20, a dla allo-KKM: I – 96,65; II – 96,50; III – 93,40.

Wnioski: We wszystkich badanych grupach auto-KKM uzyskano wyższe niż w allo-KKM wartości mediany żywotności komórek CD34+. Czas przechowywania preparatów allo-KKM powyżej 3 miesięcy wpływa na obniżenie wartości mediany liczby prekursorów CFU-GM/ 10^5 KJ.

Uzyskane wyniki wskazują, że badany czas przechowywania nie powoduje istotnego obniżenia parametrów jakościowych zarówno preparatów auto-KKM, jak i allo-KKM.

gdy w 2013 r. tylko od 680. Zwiększa się również szansa znalezienia zgodnego dawcy dla polskich biorców bez potrzeby sięgania do rejestrów zagranicznych i importu materiału przeszczepowego.

P12. POSZUKIWANIE DAWCÓW W CENTRALNYM REJESTRZE NIESPOKREWNIONYCH POTENCJALNYCH DAWCÓW SZPIKU I KRWI PĘPOWINOWEJ

mgr Klaudia Nestorowicz^{1,2},
dr Małgorzata Dudkiewicz¹, dr Ewa Malinowska¹,
mgr Anna Łęczyska¹,
dr hab. n. med. Jarosław Czerwiński^{1,3},
dr hab. n. med. Artur Kamiński¹

¹Centrum Organizacyjno-Koordynacyjne do spraw Transplantacji Poltransplant, Warszawa

²Zakład Immunogenetyki, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

³Zakład Pielęgniarstwa Chirurgicznego i Transplantacyjnego, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Od 2011 r. w Polsce działa Centralny Rejestr Niespokrewnionych Potencjalnych Dawców Szpiku i Krwi Pępowinowej (CRNPDSiKP), prowadzony przez Poltransplant, prezentowany w *Bone Marrow Donors Worldwide* jako PL5. CRNPDSiKP odpowiada za kontakty i wymianę informacji z rejestrami zagranicznymi i krajowymi ośrodkami poszukującymi niespokrewnionych dawców.

Cel: Na koniec 2016 r. w jego zasobach znalazły się dane 1,16 mln potencjalnych dawców, udostępniane przez 15 ośrodków dawców szpiku. Polskie zasoby dawców są trzecie co do wielkości w Europie, siódme na świecie i stanowią 4% światowego rejestru, który liczy już ponad 29 mln rekordów. CRNPDSiKP wyróżnia się na tle europejskich rejestrów młodym wiekiem potencjalnych dawców; 36% zarejestrowanych stanowiły osoby poniżej 30. roku życia, 37% dawcy pomiędzy 30. a 40. rokiem życia. Około 60% dawców to kobiety, dawcy płci męskiej stanowią 40% zasobów.

Materiał i metody: W ramach procedur poszukiwania niespokrewnionych dawców szpiku zasoby CRNPDSiKP przeszukiwane są przez rejestry z całego świata – łącznie ponad 17 tys. przeszukań z 31 krajów w minionym roku. Polskie ośrodki, realizując zlecone przez Poltransplant procedury doboru, sięgają do krajowego i zagranicznych rejestrów, przy czym korzystniejsze jest znalezienie zgodnego polskiego dawcy. W 2016 r. dawcy krajowi stanowili 63% dawców zaakceptowanych w procedurach doboru (w 2011 r. tylko 38%).

Wyniki i wnioski: Rosnąca liczba dawców w zasobach CRNPDSiKP wpływa na wzrost ogólnej liczby donacji komórek krwiotwórczych od polskich dawców. W 2016 r. komórki krwiotwórcze szpiku i krwi obwodowej pobrano od 1259 krajowych dawców, podczas

P13. ANALIZA WYSTĘPOWANIA I WPŁYWU PRZECIWCIAŁ ANTY-HLA NA WYNIKI PRZESZCZEPIEŃ KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH OD CZĘŚCIOWO NIEZGODNYCH W HLA DAWCÓW NIESPOKREWNIONYCH

dr Anna Kocięga¹, dr Urszula Siekiera²,
mgr Alicja Dobrowolska², dr Monika Dzierżak-Mietła¹,
prof. Mirosław Markiewicz¹

¹Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

²Pracownia Immunogenetyki HLA, Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Katowicach, Polska

Wstęp: Przeszczepienie komórek krwiotwórczych jest szeroko stosowaną metodą leczenia wielu ciężkich wrodzonych oraz nabytych zaburzeń hematopoezy, a przede wszystkim nowotworów układu krwiotwórczego. Liczba pacjentów leczonych za pomocą allo-HSCT ciągle wzrasta. Znana jest rola odpowiedzi komórkowej układu immunologicznego na obce cząsteczki HLA, natomiast udział odpowiedzi humoralnej jest ciągle poznawany.

Cel: Celem pracy była odpowiedź na pytanie, czy u pacjentów poddawanych allotransplantacji od częściowo niezgodnych w układzie HLA dawców niespokrewnionych zarówno przed, jak i po allo-HSCT występują przeciwciała anty-HLA, jaka jest ich swoistość oraz wpływ na wyniki przeszczepienia.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiło łącznie 70 pacjentów (31 kobiet i 39 mężczyzn) z medianą wieku 35 lat (zakres 13-59), materiał do badania pobrano przed oraz przynajmniej raz w ciągu pierwszego roku po allo-HSCT. Do wykrycia oraz określenia swoistości przeciwciał anty-HLA użyto metody DynaChip opartej na teście ELISA.

Wyniki i wnioski: Przeciwciała anty-HLA zidentyfikowano u pacjentów zarówno przed, jak i w różnych odstępach czasowych po allo-HSCT. Przed przeszczepieniem nie zidentyfikowano przeciwciał o swoistości skierowanej przeciwko niezgodnemu antygenowi/allelowi dawcy przeszczepu. U pacjentów z przeciwciałami anty-HLA przed allo-HSCT częściej dochodziło do utraty pełnego chimeryzmu dawcy, natomiast nie obserwowano wpływu na GF, regenerację hematopoezy, aGVHD, cGVHD, wznówę choroby podstawowej oraz przeżycie całkowite w porównaniu z grupą pacjentów bez przeciwciał anty-HLA. Występowanie przeciwciał anty-HLA po allo-HSCT nie miało wpływu na żaden

z badanych analogicznych parametrów końcowych. U biorców allo-HSCT od nie w pełni zgodnych w układzie HLA dawców niespokrewnionych przeciwciała anti-HLA występują zarówno przed, jak i w różnych okresach czasu po allo-HSCT. Identyfikowane przeciwciała anti-HLA nie są skierowane przeciwko niezgodnym pomiędzy dawcą i biorcą antygenom/allelom HLA, natomiast znacznie częściej należą do tych samych grup krzyżowo-reaktywnych. Jedynie przeciwciała anti-HLA preformowane, obecne przed allo-HSCT, zwiększają ryzyko braku pełnego chimeryzmu dawcy.

Introduction: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is an effective treatment of both congenital and acquired disturbances of hematopoiesis, especially of hematological malignancies. The number of patients who are treated with HLA-mismatched HSCT constantly increases. Oppositely to the well known participation of cellular arm of immunological response to HLA antigens, the role of humoral arm of immunity is unexplored.

Aim: The goal of this study was to identify anti-HLA antibodies, define their specificity and explore their influence on results of allo-HSCT from partially HLA-mismatched unrelated donors.

Material and methods: The study group comprised of 70 patients (31 women and 39 men), with median age of 35 years (range 13-59), who were examined both before and within the first year after allo-HSCT. Anti-HLA- A, B, C, DR, DQ and DP antibodies were detected and identified using the ELISA-based DynaChip Technology.

Results and conclusions: Anti-HLA antibodies were detected both before and after allo-HSCT. Donor allele-specific anti-HLA antibodies were not observed. Anti-HLA antibodies specific to HLA antigens/alleles mismatched between the donor and the recipient occur very seldom in allo-HSCT when the degree of match is at least 8/10 HLA-A, -B, -C, -DR and DQ alleles, although they may belong to the same cross-reactive groups. There was no significant impact of anti-HLA antibodies present before transplantation on engraftment, incidence of relapse, aGVHD, cGVHD, relapse nor overall survival, but they influenced the decrease of post-transplant full donor's chimerism. Anti-HLA antibodies revealed after allo-HSCT had no impact on any analogical studied end-point.

P14. CORRELATION BETWEEN MIRNA EXPRESSION AND MMP-9, ANGPT1 AND VEGF LEVEL IN PATIENTS UNDERGOING AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

mgr Mateusz Nowicki¹, prof. Janusz Szemraj²,
prof. Agnieszka Wierzbowska¹,
mgr Roman Małachowski¹,
dr Olga Grzybowska-Izydorczyk³,
dr Agnieszka Pluta¹, prof. Tadeusz Robak¹,
dr hab. n. med. Anna Szmigielska-Kapton¹

¹Department of Hematology, Medical University of Lodz, Copernicus Memorial Hospital, Lodz

²Department of Medical Biochemistry, Medical University of Lodz

³Department of Experimental Hematology, Medical University of Lodz

Introduction: MicroRNAs are a class of small, endogenous RNA which play an important role in angiogenesis, hematopoiesis and can influence hematopoietic stem cells (HSC) homing after transplantation by targeting bone marrow niche microenvironment, especially cytokines.

Aim: The aim of the study was to evaluate correlation between expression of miRNA-15a, miRNA-16, miRNA-126, miRNA-146a, miRNA-223 and the level of targeted cytokines: ANGPT1, MMP-9 and VEGF in patients with lymphoproliferative malignancies in course of autologous hematopoietic stem transplantation (HSCT).

Material and methods: Twenty four patients were enrolled to the study (11 F, 13 M). The median (Me) age was 57 years. The investigated group consisted of 19 multiple myeloma, 4 non-Hodgkin lymphoma, and 1 Hodgkin lymphoma. The blood (plasma samples) were collected on 4 time points: before chemotherapy – „BC”, on the day of HSCT (after chemotherapy) – „0”, seven days after HSCT – „+7” and fourteen days after HSCT – „+14”.

Results and conclusions: Our research revealed reverse correlation between miRNA-126 and MMP-9 expression on day BC ($R = -0.55$, $p = 0.02$). We noticed positive correlation between miRNA-15a, miRNA-16, miRNA-126, miRNA-146a, miRNA-223 expression on day 0 and ANGPT-1 level ($R = 0.51$, $p = 0.011$), ($R = 0.47$, $p = 0.022$), ($R = 0.52$, $p = 0.009$), ($R = 0.47$, $p = 0.02$), ($R = 0.52$, $p = 0.009$) respectively. A similar correlation on day 0 was observed in case of MMP-9 ($R = 0.54$, $p = 0.006$), ($R = 0.69$, $p = 0.0002$), ($R = 0.56$, $p = 0.004$), ($R = 0.53$, $p = 0.008$), ($R = 0.52$, $p = 0.01$) respectively. Additionally we found positive correlation between levels of miRNA-16, miRNA-146a and miRNA-223 assessed on day +7 and MMP-9 expression ($R = 0.43$, $p = 0.04$), ($R = 0.52$, $p = 0.009$) and ($R = 0.51$, $p = 0.01$) respectively. MiRNA-146a and miRNA-223 measured On day +14 after HSCT positively correlated with VEGF

concentration ($R = 0.56$, $p = 0.006$), ($R = 0.51$, $p = 0.01$). All investigated miRNAs regulate ANGPT1 and MMP-9 level after conditioning treatment. MiRNA's via targeting cytokines affect angiogenesis, HSC proliferation and homing after chemotherapy and HSCT. MiRNA-16, miRNA-146a and miRNA-223 on nadir regulate MMP-9 concentration, which probably influence stimulation the of hematopoietic cells development and improve migration of HSC to bone marrow niche. Positive correlation between miRNA-146a, miRNA-223 and VEGF level on day +14 may influence angiogenesis after HSCT. We suggest that investigated miRNAs expression may regulate cytokines concentration and play important role in the early post-transplant period.

P15. STĘŻENIE HEPICYDINY (HEP) A POZIOM LABORATORYJNYCH WYKŁADNIKÓW GOSPODARKI ŻELAZOWEJ U CHORYCH NA NOWOTWORY KRWI

mgr Paulina Dziatkiewicz, dr hab. Lidia Gil,
dr hab. Maria Kozłowska-Skrzypczak,
prof. dr hab. Mieczysław Komarnicki

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku,
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Wstęp: Bilans gospodarki żelazowej wymaga równowagi pomiędzy jelitowym wchłanianiem, gromadzeniem w komórkach układu siateczkowo-śródbłonkowego i uwalnianiem, wykorzystaniem żelaza (Fe) głównie do syntezy hemoglobiny. Laboratoryjna diagnostyka niedoboru lub przeładowania Fe opiera się na ocenie jego całkowitej zawartości w organizmie (pula magazynowa i funkcjonalna). Hepcydyna (Hep) należy do nowych badań odzwierciedlających zasoby Fe, jest hormonem syntetyzowanym głównie w hepatocytach kontrolującym jelitowe wchłanianie Fe i uwalnianie z makrofagów.

Cel: Ocena zależności pomiędzy stężeniem Hep a laboratoryjnymi wykładnikami gospodarki żelazowej.

Materiał i metody: Badania przeprowadzono w grupie 27 chorych na nowotwory hematologiczne (17 kobiet, 10 mężczyzn). Wykonano oznaczenie: Hep, TIBC, ferrytyny, Fe, sTfR. Grupę kontrolną stanowiły 33 osoby (25 kobiet, 8 mężczyzn) z CRP < 5,0 mg/L. Krew pobrano do probówek bez antykoagulantu (9,8 ml). Odwirowany materiał zamrożono i przechowywano w temperaturze -70°C do czasu wykonania oznaczenia. W badaniach wykorzystano kompetycyjne testy immunoenzymatyczne ELISA: Hepcidin25 (bioactive) HS, sTfR(DRG Diagnostics). Stężenie Fe, TIBC, ferrytyny oznaczono przy użyciu standardowych technik labora-

toryjnych. Analizę statystyczną wykonano przy użyciu programu Statistica (StatSoft) oraz StaXact (Cytel).

Wyniki i wnioski: Wykazano istotne statystycznie różnice w stężeniu Hep w grupie badanej i kontrolnej ($p < 0,001$). W grupie badanej wykazano dodatnią korelację między stężeniem Hep i ferrytyny ($RS = 0,883$, $p < 0,001$). Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem stężenia Fe wzrastało stężenie Hep ($RS = 0,443$, $p = 0,018$). Uzyskane wyniki wskazują, że im wyższe stężenie Hep tym niższy poziom TIBC ($RS = -0,678$, $p < 0,001$) oraz sTfR ($RS = -0,444$, $p = 0,016$). Wykazano zależności pomiędzy stężeniem Hep a laboratoryjnymi wykładnikami gospodarki żelazowej. Prawdopodobnie synteza Hep nasilała się w odpowiedzi na nadmiar Fe. W grupie badanej wydzielanie Hep ograniczało podaż Fe do puli funkcjonalnej (TIBC, sTfR). Stan puli magazynowej żelaza odzwierciedlają Hep i ferrytyna, jednak tylko Hep determinuje bezpośrednio dostępność Fe oraz nie wykazuje zależności od nasilenia procesu zapalnego. Ferrytyna, białko ostrej fazy, ulega wzmożonej syntezie w aktywnym procesie zapalnym, ogranicza to zastosowanie tego białka w ocenie zasobów Fe.

P16. EVALUATION OF SPECTRA OPTIA® CMNC VERSUS MNC PROTOCOLS FOR COLLECTION OF PERIPHERAL BLOOD STEM CELLS IN HEALTHY UNRELATED DONORS

Krzysztof Barnik, Martyna Maciejewska,
dr hab. n. med. Emilian Snarski, Roiya Farhan,
Elżbieta Urbanowska, Małgorzata Król, Maria Król,
Magdalena Feliksbrodt-Bratosiewicz,
Wiesław Wiktor-Jędrzejczak

Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Introduction: Recently novel collection protocol of continuous collection flow (cMNC) for leukapheresis has been introduced. We compared the efficiency of cMNC with older protocol (MNC) for CD34+ cell collection in unrelated donors in clinical scenarios where lower collection yields are expected (disproportion between the donor and recipient and low number of circulating stem cells).

Aim: Comparison of efficiency of two protocols for stem cell collection.

Material and methods: The data from donors undergoing apheresis were collected prospectively. The two hundred fifty eight consecutive healthy unrelated donors were included in the study (cMNC – 80 donors and MNC – 178 donors).

Results: The cMNC protocol showed higher number of collected CD34+/donor body weight ($7.63 \times 10^6/\text{kg}$ vs. $6.82 \times 10^6/\text{kg}$, $p = 0.027$). Mean CD34+ cells concentration in product was higher in cMNC group. One

apheresis only was sufficient for collection of requested cell number in 89% individuals from both groups despite negative predictors for sufficient collection in cMNC group (lower circulating CD34+ count and weight disproportion). In donors with CD34+ cell count < 100/uL and body mass disproportion between donor and recipient cMNC showed higher CD34+ cell concentration in product. In donors with expected lower yield of stem cells one apheresis was sufficient in 83% in cMNC group and in 58% in MNC group ($p = 0.029$).

Conclusions: cMNC protocol is significantly more efficient in donors with low pre-apheresis CD34+ cell count and in cases of weight disproportion between donor and recipient. The use of cMNC in all unrelated donors could further improve the results of HSC collections.

P17. OCENA BEZPIECZEŃSTWA I SKUTECZNOŚCI PRZESZCZEPIENIA KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH OD DAWCY NIESPOKREWNIONEGO U CHOREGO SKOLONIZOWANEGO WIELOOPORNYMI SZCZEPAMI BAKTERII PO DWÓCH TRANSPLANTACJACH WĄTROBY Z POWODU ZESPOŁU BUDDA-CHIARIEGO W PRZEBIEGU NOCNEJ NAPADOWEJ HEMOGLOBINURII (NNH) I PO TERAPII EKULIZUMABEM

dr Agnieszka Tomaszewska, dr Kazimierz Hałaburda,
dr Barbara Nasiłowska-Adamska,
Magdalena Tormanowska

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Nocna napadowa hemoglobinuria, w której patogeniezie główną rolę odgrywa mutacja somatyczna genu PIG-A prowadząca do klonalnej choroby krwiotwórczej komórki macierzystej, może manifestować się hemolizą wewnątrznaczyniową, zespołami niewydolności szpiku oraz powikłaniami zakrzepowymi.

Cel: Przedstawiamy przypadek chorego poddanego przeszczepieniu komórek krwiotwórczych od dawcy niespokrewnionego (MUDalloPBSCT) po dwóch transplantacjach wątroby z powodu zespołu Budda-Chiariego w przebiegu NNH i po terapii ekulizumabem skolonizowanego wieloopornymi szczepami bakterii.

Materiał i metody: 24.02.2016 r. u 19-letniego mężczyzny przeszczepiono wątrobę od zmarłego dawcy z powodu zespołu Budda-Chiariego. W kwietniu 2016 r. ustalono rozpoznanie NNH: stwierdzono 98,58% granulocytów z całkowitym brakiem GPI oraz 13,82% erytrocytów z defektem NNH. Wówczas wystąpił nawrót zakrzepicy żył wątrobowych, żyły wrotnej i żyły głównej dolnej. Wykonano zabieg trombolizy i ratunkowo

podano ekulizumab. Następnie z powodu objawów niewydolności wątroby przeprowadzono ratunkową transplantację wątroby (30.07.2016 r.) i zaplanowano przeszczepienie komórek krwiotwórczych. W ocenie przed MUDalloPBSCT stwierdzono progresję klonu NNH oraz kolonizację przewodu pokarmowego *Pseudomonas aeruginosa* MBL(+), *Klebsiella pneumoniae* ESBL(+), *Enterococcus casseliflavus* VRE VAN A. Procedurę przeprowadzono w dniu 16.12.2016 r. po kondycjonowaniu Busulfan(i.v.)-Fludarabina-Thymoglobulina. Od pierwszego epizodu gorączki stosowano szerokospektralne antybiotyki zgodnie z antybiogramem. U chorego wystąpiła jednak posocznica o etiologii *Pseudomonas aeruginosa* MBL(+). Zastosowano wysokie dawki kolistyny, włączono G-CSF i po 4 dobach uzyskano ustąpienie gorączki i negatywizację posiewów krwi. Chorego wypisano do domu w +55. dobie po MUDalloPBSCT. Pacjent pozostaje pod opieką Poradni Potransplantacyjnej – bez cech zakrzepicy w układzie wrotnym, z 95-100% DNA dawcy w ocenie chimeryzmu, bez obecności granulocytów i erytrocytów z defektem NNH we krwi. Problemem pozostają nawracające infekcje spowodowane bakteriami, którymi pacjent jest skolonizowany.

Wyniki i wnioski: Transplantacja komórek krwiotwórczych u chorego z rozpoznaniem NNH z licznymi powikłaniami i skolonizowanego wieloopornymi szczepami bakterii po 2 przeszczepieniach wątroby i leczeniu ekulizumabem, otrzymującego trójkową immunosupresję okazała się skuteczną metodą terapii z akceptowalnym profilem bezpieczeństwa.

P18. OCENA WPŁYWU ZABURZEŃ HOMEOSTAZY ŻELAZA NA PRZEBIEG POWIKŁAŃ INFEKCYJNYCH I NIEINFEKCYJNYCH U CHORYCH PODDANYCH ALOTRANSPLANTACJI KOMÓREK MACIERZYSTYCH HEMATOPOEZY

dr Magdalena Dutka, dr hab. Maria Bieniaszewska,
lek. med. Tomasz K. Nowicki, prof. dr hab. Edyta
Szurowska, prof. dr hab. Andrzej Hellmann, lek. med.
Michał Taszner, lek. med. Ewa Zarzycka

¹Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii, Gdański
Uniwersytet Medyczny

²II Zakład Radiologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Alosttransplantacja macierzystych komórek krwiotwórczych jest jedną z metod terapeutycznych stosowanych w leczeniu chorób hematologicznych. We wczesnym okresie potransplantacyjnym najczęstszym powikłaniem są infekcje oraz zaburzenia związane z mikroangiopatią i ostrą chorobą przeszczep przeciwko gospodarzowi. Pacjenci poddawani transplantacji z powodu wcześniej stosowanej terapii narażeni są na istotne zaburzenia gospodarki żelazowej ustroju.

Cel: Celem pracy było ustalenie najlepszej metody opisującej stan przeładowania pierwiastkiem i skorelowanie wskaźników z najczęstszymi powikłaniami infekcyjnymi i nieinfekcyjnymi wczesnego okresu po przeszczepieniu.

Materiał i metody: Wykonano badanie obrazowe rezonansu magnetycznego w różnych sekwencjach opisanych w literaturze dedykowanych diagnostyce spichrzenia żelaza. Retrospektywnie zgromadzono dane dotyczące infekcji oraz powikłań nieinfekcyjnych z oceną kliniczną i laboratoryjną poszczególnych zaburzeń w okresie 30 pierwszych dni od transplantacji oraz oceniono stopień ciężkości każdego z nich. Wyznaczono również skorelowane współczynniki infekcji i ich ciężkości. Wszystkie dane poddano ocenie i korelacji ze stanem gospodarki żelaza. Badaniem objęto 45 chorych po alotransplantacji hematopoetycznych komórek progenitorowych. Grupę badaną stanowili w większości mężczyźni, z rozpoznaniem ostrej białaczki.

Wyniki i wnioski: Stwierdzono, że przeładowanie żelazem chorych kwalifikowanych do alotransplantacji komórek macierzystych krwiotworzenia jest zjawiskiem często występującym w umiarkowanym i istotnym nasileniu. Badania ferrytyny jak i obrazowania rezonansem magnetycznym w sekwencjach Gandona, multiechowych T2* i R2* są dobrymi parametrami wskazującymi stan nadmiernej kumulacji żelaza w ustroju chorych, zależnymi od licznych przetoczeń KKCz. Natomiast zaburzenia gospodarki żelaza nie wpływają na większość powikłań nieinfekcyjnych i infekcyjnych oraz ostrą postać choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. Stwierdzono jedynie istotnie statystycznie większą częstość powikłań grzybiczych i wirusowych. Chorzy z nadmiernym gromadzeniem żelaza charakteryzowali się ponad to częstszym występowaniem infekcji współistniejących i nakładających się na siebie, o cięższym przebiegu klinicznym. Zatem monitorowanie gospodarki żelazowej winno być elementem opieki okołotransplantacyjnej. Ocena stężenia ferrytyny wydaje się być podstawową i adekwatną metodą badania. Stan przeładowania żelazem może wpływać na częstość i ciężkość występowania infekcji.

Introduction: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHCT) is one of therapeutic methods applied in the treatment of haematological diseases. At the early post-transplantation stage, the most common complications are infections, microangiopathic disorders and acute graft-versus-host disease. Patients undergoing alloHCT, because of the preceding treatment applied, are under the threat of significant disturbances of the body's iron homeostasis.

Aim: The aim of the paper was to identify the best method to describe the state of the iron overload and to correlate this indicators with the most frequent infectious and non-infectious complications occurring at an early stage after transplantation.

Material and methods: Magnetic resonance examination was carried out in different sequences described in the literature on the diagnosis of iron storage diseases. Retrospective data were collected concerning infections and non-infectious complications, together with clinical and laboratory assessments of each of the disorders during the first 30 days and the severity of each of them was assessed. Correlation coefficients of infections and their severity were also established. All data were subjected to evaluation, and their correlation with the iron homeostasis was established. The study covered 45 patients after allogeneic transplantation of haematopoietic cells, mostly men with diagnosed acute leukaemia.

Results and conclusions: It was found that iron overload in patients qualified for alloHCT is a phenomenon occurring frequently at moderate and significant severity. Ferritin examination and magnetic resonance imaging using Gandon's and multi-echo sequences T2* and R2* are good parameters indicating the state of overaccumulation of iron in the patient's system, which can be caused by numerous transfusions of packed red blood cells. However, disruptions of the iron homeostasis do not have an influence on the majority of non-infectious and infectious complications nor the acute type of the graft-versus-host disease. It was only found that the frequency of fungal and viral complications was statistically higher. Patients with an overload of iron were characterized by more frequent co-existing and overlapping infections with more severe clinical symptoms. Therefore, monitoring of the iron homeostasis should be important part of peri-transplant care. Evaluation of ferritin concentration seems to be a basic and adequate evaluation method. The condition of iron overload can affect the frequency and severity of the infection.

P19. ZASTOSOWANIE TESTU CDC WYKRYWAJĄCEGO PRZECIWCIAŁA LIMFOCYTOTOKSYCZNE ZALEŻNE OD KOMPLEMENTU

mgr Alicja Bukowska, mgr Sebastian Wiącek, mgr Barbara Szwermer, lek. med. Krzysztof Olbromski, lek. med. Hanna Skalisz

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Poznaniu

Wstęp: Test limfocytotoksyczny (test Terasakiego) opracowany w 1964 roku był stosowany do typowania antygenów HLA, a obecnie służy do wykrywania przeciwciał limfocytotoksycznych (anty-HLA klasy I, w mniejszym stopniu anty-HLA klasy II). Metoda oparta jest na zjawisku niszczenia limfocytów przez swoiste immunoglobuliny klasy IgM i IgG (podklasy IgG 1 i IgG3) zależne od dopełniacza. Stosowany jest w transplantologii i transfuzjologii. Jednym z warunków koniecz-

nych przy przeszczepianiu narządów (nerki, trzustka, serce) jest ujemna próba krzyżowa z wykorzystaniem techniki CDC. Test CDC stosowany jest w diagnostyce powikłań poprzetoczeniowych i TRALI (*transfusion related acute lung injury*), jednego z poważniejszych powikłań poprzetoczeniowych wszystkich składników krwi, a szczególnie osocza. W ok. 80% przypadków TRALI obserwuje się obecność przeciwciał w przetaczanym składniku reagujących z granulocytami/neutrofilami chorego. Test CDC w transfuzjologii znalazł także zastosowanie przy doborze dawców płytek krwi dla biorcy uodpornionego. Wykonuje się ją przy podejrzeniu małopłytkowości odpornej na przetaczane KKP (obecne przeciwciała anty-HLA skierowane do antygenów HLA klasy I, obecnych również na krwinkach płytkowych).

Cel: Celem pracy było wykazanie różnorodności zastosowania testu CDC w transfuzjologii i transplantologii.

Materiał i metody: Wykonano badania surowic pacjentów i dawców testem CDC na obecność przeciwciał limfocytotoksycznych zależnych od dopełniacza. Interpretacja wyników polegała na ocenie procentowej obecności martwych leukocytów w obrazie mikroskopowym: 1) do 10%: wynik ujemny (pkt. w skali score 1), 2) 11–100%: wynik dodatni (pkt. w skali score 2, 4, 6, 8), 3) brak reakcji, zanieczyszczenie, pęcherze powietrza: test nieczytelny (pkt. w skali score 0).

Wyniki i wnioski: W 2016 r. testem limfocytotoksycznym zależnym od dopełniacza wykonano badania (ilość): doборы KKP (101), próby krzyżowe w okresie okołoprzeszczepowym narządów unaczynionych (109), próby krzyżowe przed przeszczepem haploidentycznym KKM (24), diagnostyka powikłania poprzetoczeniowego (130), % PRA (*panel reactive antibodies*) biorców narządów unaczynionych (670). Na podstawie przedstawionych danych liczbowych test limfocytotoksyczny CDC ma szerokie spectrum zastosowania zarówno w diagnostyce okołoprzeszczepowej, jak i transfuzjologicznej. Wyniki testu CDC są decydujące w dalszym postępowaniu w transfuzjologii przy doborze odpowiedniego składnika krwi.

Wstęp: Przeszczepienie komórek krwiotwórczych (HSCT) jest stosowane u chorych na ostrą białaczkę szpikową (AML). Częstym powikłaniem po HSCT jest małopłytkowość związana głównie ze stosowaniem mielosupresyjnej chemioterapii lub infekcjami wirusowymi.

Cel: W pracy określano wpływ kondycjonowania i przeszczepienia na morfologię i funkcje płytek krwi (PLT) u chorych na AML. Badano zmiany w liczbie, parametrach morfotycznych, czynności i aktywacji PLT u chorych. Badano zależności pomiędzy morfologią i funkcją PLT a występowaniem powikłań poprzetoczeniowych, czasem rekonstytucji trombopoëzy po HSCT oraz liczbą przetoczeń składników krwi.

Materiał i metody: Do badań włączono 40 pacjentów z AML. Badania prowadzono: przed leczeniem kondycjonującym, w dniu przeszczepienia, w 1. i w 30. dobie po HSCT. Analizowano: liczbę PLT, parametry morfotyczne: średnią objętość (MPV), współczynnik zmienności rozkładu objętości (PDW), wskaźnik dużych płytek (P-LCR), czynność PLT metodą agregometryczną, aktywację PLT metodą cytometrii przepływowej, udział PLT w hemostazie metodą tromboelastometryczną.

Wyniki i wnioski: U chorych stwierdzono: obniżenie liczby PLT, podwyższenie parametrów morfotycznych, obniżenie czynności PLT, nieprawidłowości w badaniu tromboelastometrycznym, wyższy odsetek aktywowanych PLT. Chorzy otrzymujący globulinę antytymocytarną (ATG) oraz przeszczep od dawcy niespokrewnionego (aloURD-BCT) charakteryzowali się niższą liczbą i funkcją PLT oraz wyższymi parametrami morfotycznymi. Stwierdzono większy odsetek PLT aktywowanych u chorych otrzymujących ATG. Pacjenci, u których stwierdzono zakażenia wirusowe, chorobę przeszczep przeciw gospodarzowi (GvHD), mieli niższą liczbę PLT. Czas rekonstytucji trombopoëzy po HSCT korelował z PDW i P-LCR, czynnością PLT i odsetkiem aktywowanych PLT. Stwierdzono zależność pomiędzy przetoczeniami koncentratów krwinek płytkowych (KKP) a liczbą, funkcją PLT oraz parametrami morfotycznymi. Kondycjonowanie i przeszczepienie HSCT u chorych na AML wpływają na zmiany w morfologii, obniżenie czynności oraz wzrost aktywacji płytek krwi. Zaburzenia w morfologii i funkcji PLT korespondują z wystąpieniem zakażeń wirusowych i GvHD. Istnieje zależność pomiędzy obniżeniem funkcji PLT a stosowaniem u chorych ATG i alloURD-BCT, wydłużeniem czasu rekonstytucji PLT po HSCT oraz przetoczeniami KKP.

Introduction: Allogeneic stem cell transplantation (SCT) constitutes a standard procedure in patients with acute myeloid leukemia (AML).

Aim: The purpose is to determine the influence of conditioning therapy and SCT on platelet morphology and function in patients with AML. The aim was to determine whether there exists a connection between the platelet function and morphology and post-transplant complications, the time of post-transplant recon-

P20. ANALIZA MORFOLOGII I FUNKCJI PŁYTEK KRWI U PACJENTÓW Z OSTRĄ BIAŁACZKĄ SZPIKOWĄ PODDANYCH ALLOGENICZNEJ TRANSPLANTACJI KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH

dr n. med. Joanna Bienias¹,
dr n. med. Krystyna Jagoda², dr n. med. Stanisław Dyląg¹,
prof. dr hab. n. med. Sławomira Kyrzcz-Krzemień²

¹Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Katowicach

²Oddział Hematologii i Transplantacji Szpiku, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

stitution of thrombopoiesis and the necessity of blood component transfusion.

Material and methods: 40 individuals with AML were studied. The study was conducted prior to the conditioning therapy, on the day of transplantation, 1 day and then 30 days after transplantation. Morphology of the platelets was studied, including: platelet count, mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDW), platelet large cell ratio (P-LCR). Platelet function was examined by means of aggregometry. The role of platelets in hemostasis was analysed by means of thromboelastometry. Proportion of activated platelets was determined by the flow cytometry.

Results and conclusions: Transplantation were proved to cause the reduction in platelet count and growth of the parameters MPV, PDW, P-LCR. Transplantation process was proved to influence the reduction in platelet function. Thromboelastometry confirmed that abnormal hemostatic parameters. The activated platelet count was higher after SCT. In patients whose conditioning therapy included the use of antithymocyte globulin and in those, who received transplants from unrelated donors, a lower platelet count, reduced platelet function and abnormal platelet morphotic parameters were observed. A relationship was also observed between the longer post-transplant thrombopoiesis reconstitution time and the occurrence of abnormalities in platelet morphology, function. The statistical dependence was also noticed between platelet concentrate transfusions and decrease in platelet count, their function and abnormal morphotic parameters. Conditioning therapy and blood-forming stem cell transplants in patients with AML lead to changes in the platelet morphology, reduction in their function and increase in their activation. It was also confirmed, that abnormalities in platelet morphology and function correspond with the occurrence of post-transplant complications.

P21. NAWRÓT MIELOFIBROZY Z OBECNOŚCIĄ MUTACJI JAK2V617F U CHOREGO PO PRZESZCZEPNIENIU KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH OD DAWCY NIESPOKREWNIONEGO (MUDALLOPBSCT) Z JEDNOCZESNĄ MANIFESTACJĄ W POSTACI NOCNEJ NAPADOWEJ HEMOGLOBINURII

dr Agnieszka Tomaszewska,
dr Barbara Nasiłowska-Adamska,
dr Kazimierz Hałaburda, Magdalena Tormanowska

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Transformacja do nocnej napadowej hemoglobinurii (NNH) w chorobach mieloproliferacyjnych występuje kazuistycznie. Brak takich danych dotyczących chorych po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych.

Cel: Przedstawiamy przypadek pacjenta po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych od dawcy niespokrewnionego z powodu mielofibrozy JAK2V617F(+), u którego wystąpił nawrót choroby po 5 latach od procedury z jednoczasową transformacją do nocnej napadowej hemoglobinurii.

Materiał i metody: Rozpoznanie mielofibrozy wtórnej do wieloletniego wywiadu czerwienicy prawdziwej i nadpłytkowości samoistnej ustalono w 2009 r. Ze względu na progresję choroby pacjenta zakwalifikowano do procedury MUDalloPBSCT, którą po kondycjonowaniu Busulfan (*i.v.*) 4-Fludarabina-Thymoglobulina przeprowadzono w dniu 21.05.2011 r. Pacjent pozostawał pod opieką Poradni Potransplantacyjnej – bez objawów choroby, ze 100% DNA dawcy oraz negatywną badanie w kierunku mutacji JAK2V617F. W maju 2016 r. u chorego stwierdzono stopniowe narastanie aktywności dehydrogenazy mleczanowej (do 1400 U/L) i anemizację. Wykonano badania kontrolne, podejrzewając nawrót mielofibrozy: w mielogramie – bez istotnych nieprawidłowości, w trepanobiopsji – włóknienie retikulinowe MF2/MF3, w immunofenotypowaniu szpiku defekt błony komórkowej linii mieloidalnej (brak ekspresji CD66c); w karyotypie: 46, XY[30]; w badaniach molekularnych ponownie obecność mutacji JAK2V617F; chimeryzm – 20% DNA dawcy w szpiku i 33% – we krwi. Ze względu na defekt błonowy linii mieloidalnej wykonano badania krwi w kierunku NNH – wykazano 89,18% granulocytów z całkowitym brakiem GPI i 15,12% erytrocytów z defektem. Ostatecznie rozpoznano nawrót mielofibrozy z obecnością klonu NNH i zakwalifikowano chorego do II procedury MUDalloPBSCT od innego dawcy, którą przeprowadzono w dniu 21.10.2016 r. po kondycjonowaniu Fludarabina-Melfalan-Thymoglobulina-TBI 200 cGy. Uzyskano wszczepienie: ANC > 0,5 G/L w +29. i PLT > 50 G/L w +50. dobie. Nie obserwowano GvHD ani reaktywacji wirusów. Pacjent pozostaje pod opieką Poradni Potransplantacyjnej – z prawidłowymi parametrami hematologicznymi, ze 100% DNA drugiego dawcy w ocenie chimeryzmu, bez obecności granulocytów ani erytrocytów z defektem NNH we krwi.

Wyniki i wnioski: Opisujemy przypadek jest pierwszym dobrze udokumentowanym nawrotem mielofibrozy po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych od dawcy niespokrewnionego z jednoczesną manifestacją w postaci nocnej napadowej hemoglobinurii skutecznie leczonym MUDalloPBSCT od innego dawcy.

HEMATOLOGIA DOŚWIADCZALNA

PRZEWODNICZĄCY: P. JUSZCZYŃSKI
(WARSZAWA), M.Z. RATAJCZAK
(WARSZAWA, LOUISVILLE, USA)

Doniesienia ustne

ZAHAMOWANIE AKTYWNOŚCI KINAZY SYK W KOMÓRKACH LSC OSTREJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ (AML) PROWADZI DO OBNIŻENIA KLONOGENNOŚCI ORAZ INDUKCJI RÓŻNICOWANIA I APOPTOZY

dr Anna Polak, dr Przemysław Kiliszek,
dr Tomasz Sewastianik, dr Maciej Szydłowski,
dr Ewa Jabłońska, dr Emilia Białopiotrowicz,
dr Patryk Górniak, Monika Noyszewska-Kania,
Krolina Piechna, Jolanta Woźniak,
Beata Krzymieniewska, Elżbieta Patkowska,
Agnieszka Kołkowska-Leśniak,
prof. Ewa Lech-Marańda, prof. Krzysztof Warzocha,
prof. Przemysław Juszczynski

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: SYK (*Spleen Tyrosine Kinase*) odgrywa istotną rolę w patogenezie AML. Zahamowanie SYK obniża proliferację, stymuluje różnicowanie i apoptozę blastów białaczkowych. Patomechanizm działania SYK jest nieznan.

Cel: Identyfikacja kluczowych szlaków, poprzez które SYK reguluje proliferację, różnicowanie i potencjał klonogeny AML.

Materiał i metody: Linie i blasty AML inkubowano 24–72 h z R406 (inhibitor SYK). Aktywność SYK, ERK, STAT5 badano metodą western blot lub FACS. Proliferację, apoptozę, klonogenność oceniano przez MTS, FACS, hodowlę w metylocelulozie. Do oceny różnicowania wykorzystano barwienie Giemsa, ilościowy NBT, ekspresję CD14/CD15, qPCR. Konstytutywnie aktywny MEKDD, STAT5A1*6 wprowadzono retrowirusowo do linii AML. W badaniach z LSC (*leukemic stem cell*) wykorzystano linię o hierarchicznej organizacji, TEX. Poziom ROS i masę mitochondrialną oceniano barwieniem DCF i MitoTracker GreenFM. Do oceny ekspresji MYC, TFAM, NRF1, NRF2, EF-Tu wykorzystano immunoblot, qPCR.

Wyniki i wnioski: Aby zidentyfikować drogi przekazywania sygnału przez SYK w AML, oceniono aktywność szlaków sygnałowych zależnych od SYK. R406 zahamował aktywność pSYK, pERK, pSTAT5, obniżył proliferację, potencjał klonogeny oraz zwiększył różnicowanie i indukował apoptozę komórek. Aby ocenić udział ERK w defekcie różnicowania oraz udział STAT5A w regulacji potencjału klonogenego, do komórek AML

wprowadzono aktywne mutanty MEK i STAT5 (MEKDD i STAT5A1*6). R406 zwiększył ekspresję markerów różnicowania oraz obniżył klonogenność jedynie w komórkach kontrolnych. Ponadto w komórkach z wprowadzonym STAT5A1*6 obserwowano wyższą ekspresję markerów LSC– (CD25, CD123). R406 silnie zahamował ekspresję tych markerów w komórkach kontrolnych. Wpływ R406 na populację LSC oceniono, wykorzystując linię TEX. R406 obniżył proliferację, potencjał klonogeny i zwiększył apoptozę TEX. Cechą LSC jest wyższa ekspresja MYC i genów biogenezy mitochondriów. Ponieważ STAT5 reguluje MYC, założono, że R406 eliminuje LSC poprzez obniżenie biogenezy mitochondriów. R406 w komórkach TEX i blastach CD34+ obniżył ekspresję MYC, genów biogenezy mitochondriów i masę mitochondrialną. Podsumowując, kinaza SYK blokuje różnicowanie komórek AML poprzez aktywację ERK oraz reguluje klonogenność poprzez STAT5. Ponadto aktywność SYK jest niezbędna dla zachowania ekspresji MYC i genów biogenezy mitochondriów, czynników kluczowych dla utrzymania populacji LSC w AML.

Plakaty

P1. DZIAŁANIE CYTOTOKSYCZNE ANALOGÓW HONOKIOŁU, IBRUTYNIBU I IDELALISIBU STOSOWANYCH POJEDYNCZO ORAZ W SKOJARZENIACH NA KOMÓRKI SZPICZAKA MNOGIEGO *IN VITRO*

Damian Mikulski¹, Alicja Glegoła¹,
dr Barbara Cebula-Obrzut², Aleksandra Mędra²,
prof. Piotr Smolewski²

¹Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Hematologii,
Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Zakład Hematologii Doświadczalnej Uniwersytetu
Medycznego w Łodzi

Wstęp: Honokiol jest substancją o działaniu przeciwnowotworowym, izolowaną z *Magnolia* spp. Zsyntetyzowano szereg jego 7 analogów (HAs), z których 4 wykazały znaczącą aktywność w modelu *in vitro* nowotworów B-komórkowych (badania własne, Molecules, 2016). Brak jest doniesień na temat ich działania na komórki szpiczaka mnogiego (MM).

Cel: Celem pracy była ocena cytotoksyczności HAs oraz wprowadzonych ostatnio do leczenia rozrostów B-komórkowych inhibitorów BCR, ibrutynibu (IBR) i idelalisibu (IDELA), stosowanych pojedynczo oraz w skojarzeniach na komórki MM.

Materiał i metody: Komórki MM linii RPMI8226 były inkubowane *in vitro* z phloro-G-3,3'-dibromo-4,4'-bis(dimetyloamino)-benzylideno-floroglucyną (HA1), dibromoiimipraminą (HA2), trójbromo-fioletem goryczki (HA4) oraz fioletem goryczki (HA5), IBR lub IDELA osobno oraz w skojarzeniach. Zastosowano ustalone wcześniej następujące stężenia leków: HA1 – 0,5 µM, HA2 – 1 µM, HA4 – 1 µM, HA5 – 0,25 µM, IBR – 10 µM oraz IDELA – 50 µM.

Cytotoksyczność badano testem z jodkiem propydydny (JP) za pomocą cytometrii przepływowej, oznaczając skorygowany indeks cytotoksyczności (SIC), będący różnicą między odsetkiem komórek JP+ w poszczególnych hodowlach z badanymi lekami a ich odsetkiem w kontrolach. Ponadto, badano wpływ leków na eksternalizację fosfatydyloseryny (test z Aneksyną-V; Ann-V).

Wyniki: W porównaniu z poszczególnymi HAS oraz IBR zastosowanymi pojedynczo (SIC HA1 = 17,4%, SIC HA2 = 4,0%, SIC HA4 = 5,5%, SIC HA5 = 21,7%, SIC IBR = 24,5%) wszystkie ich skojarzenia wykazywały znaczący wzrost cytotoksyczności (odpowiednio: SIC IBR+HA1 = 41,5%, $p < 0,001$; SIC IBR+HA2 = 42,5%, $p = 0,003$; SIC IBR+HA4 = 44,5%, $p < 0,001$; SIC IBR+HA5 = 48,8%, $p < 0,001$). W porównaniu z poszczególnymi HAS oraz IDELA (SIC IDELA = 4,4%) trzy skojarzenia wykazywały znaczący wzrost cytotoksyczności: SIC IDELA+HA1 = 13,8%, $p = 0,003$; SIC IDELA+HA4 = 11,7%, $p = 0,02$; SIC IDELA+HA5 = 43,9%, $p < 0,001$. Poziom cytotoksyczności korelował z odsetkiem indukowanej apoptozy mierzonej testem z Ann-V ($R = 0,87$, $p < 0,001$).

Wnioski: Badane HAS, IBR i IDELA wykazują działanie cytostatyczne na komórki MM *in vitro*. Ich skojarzenie istotnie zwiększa ich efekt w porównaniu z pojedynczo stosowanymi lekami, który opiera się na aktywacji apoptozy komórek. Dokładniejsze mechanizmy tych interakcji wymagają dalszych badań w celu ustalenia potencjalnych, optymalnych skojarzeń HAS z biologicznymi lekami celowanymi.

P2. WZROST UWALNIANIA MIKROCZĄSTEK U PACJENTÓW Z WYBRANYMI CHOROBYMI ROZROSTOWYMI KRWI

mgr Mateusz Dziemiańczuk^{1,2},
dr n. med. Magdalena Bujno¹,
dr n. med. Alina Lipska¹,
dr hab. n. med. Jarosław Piszcz², Anna Rogowska¹,
dr n. med. Marzena Galar²,
prof. dr hab. n. med. Janusz Kłoczko²,
prof. dr hab. n. med. Piotr Radziwon^{1,2}

¹Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Białymstoku

²Klinika Hematologii z Pododdziałem Chorób Naczyni, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Wstęp: W wielu stanach patologicznych obserwuje się wzrost ilości mikrocząstek pochodzących z komórek krwi. Mikrocząstki wykazują działanie pro- i antykoagulatoryjne i mają ścisły związek z wrodzonymi zaburzeniami czynności płytek krwi, małopłytkowością indukowaną heparyną oraz zakrzepicą żył głębokich.

Cel: Określenie ilości uwalnianych mikrocząstek pochodzących z komórek krwi i śródbłonna oraz wybranych markerów układu hemostazy u pacjentów z czerwonicią prawdziwą (PV), nadpłytkowością samoistną

(ET) i przewlekłą białaczką limfocytową (CLL) przed rozpoczęciem leczenia.

Materiał i metody: Materiałem do badań była krew żylna pobrana od pacjentów przyjętych na oddział z rozpoznaniem PV, ET oraz CLL. Grupę kontrolną stanowił materiał pobrany od zdrowych ochotników. Badano: morfologię krwi obwodowej, podstawowe markery układu hemostazy: PT, APTT, stężenie fibrynogenu i D-dimerów oraz oznaczono ilość mikrocząstek pochodzenia płytkowego, leukocytarnego, erytrocytarnego oraz śródbłonkowego przy użyciu cytometru przepływowego z zastosowaniem mieszaniny znakowanych przeciwciał: CD235, CD45, CD42b oraz CD144.

Wyniki i wnioski: We wszystkich badanych jednostkach chorobowych wykazano istotny statystycznie wzrost ilości wszystkich badanych typów mikrocząstek w odniesieniu do grupy kontrolnej. W przypadku PV obserwowano znacznie zwiększoną ilość mikrocząstek pochodzenia erytrocytarnego, natomiast w ET stwierdzono dominujący wzrost odsetka procentowego mikrocząstek pochodzenia płytkowego w stosunku do pozostałych populacji mikrocząstek. W PV zauważalne jest wydłużenie APTT, wzrost stężenia fibrynogenu oraz wzrost stężenia D-dimerów w porównaniu z grupą kontrolną. W przebiegu ET wydłużone były PT i APTT, a także podwyższone stężenie fibrynogenu. W przypadku CLL obserwowano wzrost stężenia fibrynogenu oraz D-dimerów. Choroby rozrostowe krwi stymulują uwalnianie mikrocząstek z komórek krwi i śródbłonna. Najwięcej mikrocząstek w chorobach rozrostowych jest uwalnianych z komórek, których dotyczy rozrost nowotworowy. W momencie rozpoznania wyżej wymienionych chorób u pacjentów zauważalne jest zaburzenie funkcjonowania układu hemostazy. Aby szerzej poznać wpływ mikrocząstek na występowanie potencjalnych powikłań zakrzepowo-zatorowych i krwotocznych, konieczne są dalsze badania.

P3. METABOLIC CONTROL IN PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES TREATED WITH AUTOLOGOUS PERIPHERAL BLOOD STEM CELLS TRANSPLANTATION

dr Magdalena Walicka¹, dr Alicja Milczarczyk¹,
dr hab. n. med. Emilian Snarski², dr Krystyna Jedynasty¹,
dr Kazimierz Hałaburda², dr Tigran Torosian²,
dr Elżbieta Urbanowska², dr Małgorzata Król²,
prof. Wiesław Wiktor-Jędrzejczak², prof. Edward Franek¹

¹Department of Internal Diseases, Endocrinology and Diabetology, Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration in Warsaw

²Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Introduction: The immunoablation and autologous hematopoietic stem cell transplantation (AH SCT) has

been introduced into the treatment of diabetes type 1 (DM1) to break the immune reaction leading to diabetes. The treatment lead to the temporary response in majority of patients.

Aim: With this study we aimed assess metabolic control in patients with newly diagnosed DM1 who underwent AHSCT as a treatment of diabetes and compare it with the group of controls treated with insulin.

Material and methods: AHSCT was performed in 23 patients. Control group comprised 8 non-APBSCT patients in whom after diagnosis insulin therapy was initiated. The AHSCT group was followed-up for 72 months. In all subjects fasting plasma glucose, glycated haemoglobin, fasting and postprandial C-peptide were assessed and continuous glucose monitoring was performed at 6th, 12th, 24th, 36th, 48th month after transplantation.

Results: At the 6th month after the procedure 22 from 23 transplanted patients remained insulin free, but after 6 years there was only one AHSCT insulin-free patient. On the other hand when compared with control patients treated with insulin most glycemic control parameters such as: fasting plasma glucose, glycated hemoglobin concentration (HbA_{1c}), fasting C-peptide and post prandial C-peptide were favoring AHSCT over insulin treatment on any given time during the studied period (first 48 months after the treatment initiation).

Conclusions: Effectiveness of AHSCT as a method of treatment of newly diagnosed DM1 seems to be limited for longer time, but the metabolic control of APBSCT patients seems to be better, then conventionally treated.

P4. MOBILIZACJA KOMÓREK MACIERZYSTYCH W ZABURZENIACH PSYCHICZNYCH ORAZ ICH POTENCJALNE ZAANGAŻOWANIE W PROCESY REGENERACYJNE

dr Daniel Pędziwiatr

Zakład Medycyny Regeneracyjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Zaburzenia psychiczne objawiają się zmianami w sposobie zachowania oraz zmianami strukturalnymi w mózgu, ale także zaburzeniami metabolicznymi i nieprawidłowościami w funkcjonowaniu układu odpornościowego. Obserwuje się aktywację autonomicznego układu nerwowego, komórek oraz białek zaangażowanych w reakcje obronne organizmu. Niewiadomą pozostaje wpływ ostrych psychoz oraz zaburzeń lękowych na krążenie różnych populacji komórek macierzystych oraz czynników odpowiadających za ich mobilizację ze szpiku kostnego i potencjalną migrację do tkanek, np. mózgu.

Cel: Komórki pochodzenia szpikowego mogą przekraczać barierę krew–mózg, dlatego uważa się, że komórki macierzyste oraz czynniki uczestniczące w ich mobilizacji mogą być zaangażowane w patogenezę różnych zaburzeń psychicznych i stanowić dla nich potencjalny marker biologiczny.

Materiał i metody: Badania dotyczyły dwóch grup 30 pacjentów z pierwszym epizodem psychotycznym oraz z ostrym zespołem lękowym, a także 35 zdrowych ochotników (kontrola). W krwi obwodowej pacjentów oznaczono liczbę krążących komórek macierzystych HSC o fenotypach Lin-/CD45+/CD34+ oraz Lin-/CD45+/CD133+, komórek progenitorowych śródbłonna EPC o fenotypie CD133+/CD34+/KDR+ oraz mezenchymalnych komórek macierzystych MSC o fenotypie CD90+/CD105+/CD29+/CD45-. Dodatkowo dokonano analiz *in vitro* liczby klonogennych progenitorów szeregu granulocytowo-monocytoowego (CFU-GM) oraz erytroidalnego (BFU-E). Jednocześnie zmierzono stężenie katecholamin (dopaminy, noradrenaliny oraz adrenaliny) oraz białek układu dopełniacza C3a, C5a i C5b-C9 w osoczu pacjentów.

Wyniki i wnioski: Zaobserwowano znaczący wzrost liczby krążących MSC w obu badanych grupach pacjentów, przy jednoczesnym braku mobilizacji komórek HSC i EPC. Odnotowano także podwyższony poziom dopaminy oraz niższe stężenie białek układu dopełniacza u pacjentów w odniesieniu do grupy kontrolnej. Zmiany w liczbie krążących mezenchymalnych komórek macierzystych w krwi obwodowej pacjentów po wystąpieniu pierwszego epizodu psychotycznego oraz pacjentów z zaburzeniami lękowymi mogą wskazywać na potencjalną aktywację procesów regeneracji, pełniąc rolę potencjalnego biomarkera diagnostycznego u pacjentów z pierwszym epizodem psychotycznym oraz ostrym zespołem lękowym. Zmiany w stężeniu katecholamin oraz białek układu dopełniacza w osoczu pacjentów ze wzmożonym napięciem układu współczulnego nie korelują z mobilizacją krwiotwórczych komórek macierzystych i progenitorowych do krwi obwodowej.

Introduction: Psychotic disorders are associated not only with neuro cognitive dysfunctions, structural changes in brain but also with impairment in function of metabolic and inflammatory systems. Major changes involve activation of autonomic nervous system, changes in catecholamine levels in the synaptic space and activation of immune cells. However, there is a lack of data on the effect of acute psychosis on the populations of circulating in peripheral blood stem cells as well as factors which modulate mobilization and trafficking of these cells.

Aim: Bone marrow-derived cells may cross the blood-brain barrier. Based on this observation it was postulated that stem cells and factors orchestrating their trafficking can be involved in the pathogenesis of different mental disorders, therefore may serve in the future as potential biomarkers for acute psychosis and anxiety.

Material and methods: In the presented study we have enrolled 30 patients during their first psychotic episode or acute anxiety before and after drugs treatment as well as 35 healthy volunteers. We evaluated the number of circulating in peripheral blood Lin⁻/CD45⁺/CD34⁺ and Lin⁻/CD45⁺/CD133⁺ Hematopoietic Stem Cells (HSCs), CD133⁺/CD34⁺/KDR⁺ Endothelial Progenitor Cells (EPCs), CD90⁺/CD105⁺/CD29⁺/CD45⁻ Mesenchymal Stem Cells (MSCs) between studied and control groups. In parallel, we have performed in vitro functional assays to detect the number of Colony Forming Unit of Granulocytes and Macrophages (CFU-GM) and Burst Forming Unit of Erythrocytes (BFU-E) clonogenic progenitors circulating in PB. Furthermore, we also measured the plasma levels of catecholamines (dopamine, epinephrine and norepinephrine) and complement cascade proteins (C3a, C5a and C5b-9).

Results and conclusions: We observed increase in number of circulating MSCs in both groups of patients, but we haven't seen any changes on mobilization of HSCs and EPCs. We noticed elevated level of dopamine and lower level of complement cascade proteins in patients compare to control group. The differences in the number of circulating mesenchymal stem cells in peripheral blood in patients with first episode of psychosis and anxiety disorders may indicate a potential involvement of regenerative processing and could be employed as a potential diagnostic biomarker in patients. Changes in plasma level of complement cascade proteins and catecholamine in patients with increased sympathetic nervous tonus do not correlate with mobilization of hematopoietic and progenitor stem cells.

SKAZY KRWOTOCZNE

PRZEWODNICZĄCY: J. WINDYGA
(WARSZAWA), K. CHOJNOWSKI (ŁÓDŹ)

Doniesienia ustne

SKLEROTERAPIA KRWAWIĄCYCH ŻYŁAKÓW PRZEŁYKU U CHORYCH NA HEMOFILIJĘ Z MARSKOŚCIĄ WĄTROBY

prof. Andrzej B. Szczepanik¹, dr Sławomir Huszcza¹,
dr Andrzej Misiak¹, dr Wojciech P. Dąbrowski¹,
dr Konrad Pielaciński¹, dr Anna M. Szczepanik²,
dr Sławomir Gajda¹

1Klinika Chirurgii Ogólnej, Onkologicznej i Metabolicznej
Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa
2Klinika Chorób Wewnętrznych i Geriatrii, Uniwersytet
Jagielloński, Kraków

Wstęp: U chorych na hemofilię z marskością wątroby postępowanie w krwotoku z żyłaków przełyku stanowi poważny problem kliniczny ze względu na wrodzony

niedobór lub brak czynników krzepnięcia VIII lub IX, obniżoną syntezę wątrobowych czynników krzepnięcia oraz małopłytkowość hyperspleniczną. W piśmiennictwie są tylko pojedyncze doniesienia o leczeniu krwawień z żyłaków przełyku u chorych na hemofilię.

Cel: Celem pracy była ocena skuteczności doraźnej endoskopowej skleroterapii w leczeniu krwotoków z żyłaków przełyku u chorych na hemofilię.

Materiał i metody: W latach 2001–2014 wszyscy chorzy na hemofilię przyjęci z endoskopowo udokumentowanym krwotokiem z żyłaków przełyku zostali włączeni do badań. W grupie tej było 18 chorych na hemofilię, w tym 16 chorych na hemofilię A (ciężka – 10, ciężka z inhibitorem o niskim mianie – 2, łagodna – 4) i 2 na hemofilię B (postać ciężka) w wieku 25–53 lat, średnio 40,7 roku. U wszystkich chorych przyczyną nadciśnienia wrotnego była pozapalna marskość wątroby, według klasyfikacji Childa-Pugha: A – 7, B – 6, C – 5. Po przyjęciu wdrażano leczenie resuscytacyjne obejmujące wstrzykiwanie niedoborowego czynnika krzepnięcia, wyrównywanie ubytków krwi, niedoborów płynów i elektrolitów, dożylnie podawanie inhibitora pompy protonowej, antybiotyku oraz leku naczynioskurczowego. Po uzyskaniu stabilizacji hemodynamicznej wykonywano zabieg endoskopowej skleroterapii. Środek obliterujący, 5% oleinian etanolaminy, wstrzykiwano dożyłkowo w objętości 10–20 ml. Leczenie substytucyjne czynnikiem niedoborowym prowadzono przez 3 doby w takich dawkach, aby aktywność czynnika VIII lub IX przed zabiegiem oraz w następnych dobach po zabiegu wynosiła w granicach 80–100%.

Wyniki i wnioski: Spośród 18 chorych zatrzymanie krwawienia uzyskano u 17 (94%) chorych. Jeden pacjent z niekontrolowanym krwawieniem zmarł wśród objawów niewydolności wątroby. Nawrót krwawienia obserwowano u 3 (16%) chorych; wszystkie zatrzymane zabiegiem skleroterapii. Powikłania stwierdzono u 3 (16%) pacjentów (głęboki wrzód przełyku – 1, wysięk opłucnowy – 2), które ustąpiły po leczeniu zachowawczym. Łącznie po doraźnej skleroterapii obserwowano 2 zgony: jeden opisano powyżej; drugi pacjent zmarł z powodu niewydolności wątroby. Całkowita ilość niedoborowego czynnika krzepnięcia VIII lub IX przetoczona u jednego chorego wyniosła od 18 000 do 25 000 jednostek. Doraźna skleroterapia z 3-dniowym leczeniem substytucyjnym jest skuteczną i bezpieczną metodą leczenia krwawień z żyłaków przełyku u chorych na hemofilię.

Introduction: In hemophilia patients and liver cirrhosis management of bleeding esophageal varices is a serious clinical condition due to congenital deficiency of clotting factors VIII or IX, decreased clotting hepatic factors synthesis and hypersplenic thrombocytopenia. In the literature there are only few reports on the esophageal variceal hemorrhage treatment in hemophilia patients.

Aim: The aim of the study was to evaluate the effectiveness of emergency endoscopic sclerotherapy in

the management of bleeding esophageal varices in hemophilia patients.

Material and methods: All hemophilia patients admitted from 2011 to 2014, with endoscopically documented hemorrhage from esophageal varices were enrolled into the study. There were 18 hemophilia patients, 16 with hemophilia A (severe – 10, severe with low titer inhibitor – 2, mild – 4) and 2 with hemophilia B (severe), aged 25-53 years, mean 40.7. In all patients the cause of portal hypertension was post-inflammatory liver cirrhosis, according to Child-Pugh classification A – 7, B – 6, C – 5. After admission resuscitation was administered including injection of deficient coagulation factor, compensation of blood loss, correction of fluid and electrolyte imbalance, intravenous administration of PPI, antibiotic and vasoconstrictive drug. After hemodynamic stabilization immediate endoscopic sclerotherapy procedure was performed. Sclerosing agent, 5% ethanolamine oleate, was injected intravariceally in total volume of 10-20 ml. Replacement therapy with deficient coagulation factor was applied for 3 days maintaining activity of factors VIII or IX before and after procedures at level 80-100%.

Results and conclusions: Esophageal variceal bleeding cessation was achieved in 17 of 18 (94%) patients with sclerotherapy. One patient died due to uncontrolled hemorrhage and liver insufficiency. Recurrent bleeding was observed in 3 (16%) patients; all were stopped with sclerotherapy. Complications were observed in 3 (16%) patients (deep esophageal ulcer – 1, exudative pleuritis – 2) which resolved after conservative treatment. In total, two deaths occurred: one was described above, a second patient died due to liver insufficiency. Total amount of deficient clotting factor VIII or IX administered in separate patient was from 18 000 to 25 000 units. Emergency endoscopic sclerotherapy with three-days of substitutive therapy is effective and safe method of esophageal variceal hemorrhage management in patients suffering from hemophilia.

PODŁOŻE GENETYCZNE I PRZEBIEG KLINICZNY ZESPOŁU UPSHAW-SCHULMANA

dr n. med. Magdalena Górską¹,
prof. dr hab. n. med. Ksenia Bykowska²,
dr n. med. Edyta Odnoczek², dr n. med. Beata Baran²,
prof. dr hab. n. med. Magdalena Łętowska³,
dr n. med. Ewa Stefańska-Windyga⁴,
prof. Johanna Kremer-Hovinga^{5,6},
prof. dr hab. n. med. Jerzy Windyga^{1,2}

¹Klinika Zaburzeń Hemostazy i Chorób Wewnętrznych, Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Zakład Hemostazy i Chorób Metabolicznych, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

³Zakład Transfuzjologii Metabolicznych, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁴Poradnia Zaburzeń Hemostazy, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁵Department of Hematology and Central Hematology Laboratory, Inselspital, Bern University Hospital, Freiburgstrasse, Bern, Switzerland

⁶Department of Clinical Research, University of Bern, Bern, Switzerland

Wstęp: Przyczyną zespołu Upshaw-Schulmana (*Upshaw-Schulman syndrome* – USS), czyli wrodzonej zakrzepowej plamicy małopłytkowej, jest uwarunkowany genetycznie niedobór osoczowej metaloproteiny ADAMTS13 (*a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type 1 motifs 13*), której zadaniem jest proteolityczna degradacja ultra dużych multimerów czynnika von Willebranda (*ultra large von Willebrand factor multimers* – UL-VWFM). Niedobór ADAMTS13 prowadzi do kumulacji UL-VWFM, które wiążą płytki krwi i formują zakrzepy w mikrokrośniu, powodując niedokrwienie różnych narządów.

Cel: Identyfikacja mutacji sprawczej w genie ADAMTS13 oraz ocena przebiegu klinicznego USS u 10 polskich pacjentów.

Materiał i metody: Aktywność, zawartość antygeny oraz stężenie inhibitora ADAMTS13 oznaczono metodą immunoenzymatyczną. W celu identyfikacji mutacji sprawczej sekwencjonowano wszystkie 29 eksonów oraz flankujące introny genu ADAMTS13. Ocenę przebiegu klinicznego choroby przeprowadzono na podstawie retro- i prospektywnej analizy dokumentacji medycznej.

Wyniki: Badaniem objęto 10 pacjentów z 7 rodzin. U wszystkich aktywność, zawartość antygeny i inhibitora ADAMTS13 były niewykrywalne. Siedmiu chorych (4 rodziny) było homozygotami wobec mutacji przesunięcia ramki odczytu c.4143dupA w eksonie 29. Pozostała trójka pacjentów była podwójnymi heterozygotami: 1) c.[4143dupA(;) 2445delG]; 2) c.[2272T>C(;)3178C>T]; 3) c.[3178C>T(;)4143dupA]. Wszystkie wykryte mutacje były już wcześniej opisane. Pierwsze objawy USS (małopłytkowość i niedokrwistość) wystąpiły we wczesnym dzieciństwie, średnio w 4. roku życia,

natomiast rozpoznanie ustalono średnio w 21. roku życia. Szczególny przypadek stanowi pacjent z mutacją c.[2272T>C(;)3178C>T], u którego pierwszą manifestacją USS był udar niedokrwienno mózgu w 52. roku życia. Połowa chorych doświadczyła przynajmniej jednego epizodu niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego. U 7 wystąpiła niewydolność nerek, a 2 wymagało leczenia nerkozastępczego. U 2 pacjentek objawy USS wyzwoliła ciąża. Siedmiu pacjentów wymaga regularnej substytucji ADAMTS13 (źródłem jest świeżo mrożone osocze) w celu prewencji procesu zakrzepowego. W 2 rodzinach zanotowano dwa zgony z powodu USS.

Wnioski: Spektrum mutacji sprawczych w genie ADAMTS13 u polskich pacjentów z USS jest podobne do innych europejskich populacji. Przebieg kliniczny w badanej grupie jest ciężki. Zwraca uwagę wieloletnie opóźnienie między pierwszymi objawami USS a ustaleniem ostatecznego rozpoznania.

Plakaty

P1. VON WILLEBRAND FACTOR (VWF) PROPEPTIDE (VWFPP) AND VWFPP TO VWF ANTIGEN (VWF:AG) RATIO IN ASSESSMENT OF INHERITED (VWD) AND ACQUIRED (AVWS) VON WILLEBRAND DISEASE

prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska¹,
dr med. Ewa Mendek-Czajkowska¹,
dr med. Andrzej Misiak¹,
dr med. Bernadeta Ceglarek¹,
dr med. Anna Jolanta Sikorska¹,
lek. med. Dariusz Zakrzewski², dr med. Beata Baran¹,
prof. dr hab. med. Jerzy Windyga¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Instytut Kardiologii w Warszawie

Introduction: VWFpp is essential for proper biosynthesis of VWF. After cleavage from mature VWF, non-covalent complex of VWF and VWFpp is packed into Weibel-Palade bodies of endothelial cells and α granules of platelets. After release to plasma the complex dissociate and its elements circulate independently.

Aim: It has been assumed that the VWFpp/ to VWF:Ag ratio (VWFpp/VWF:Ag) is an important biomarker of VWF clearance.

Material and methods: The study group comprised: 50 persons with normal VWF activity (control : 50-100% VWF:RCO); 108 with VWD (< 5-50% VWF:RCO) and 21 patients with AVWS including: 11 with essential thrombocythemia, 3 with antibodies to VWF in course of monoclonal gammopathy, 7 with aortic valve stenosis. We determined Factor VIII (VIII:C), VWF ristocetin cofactor activity (VWF:RCO) and VWF antigen (VWF:Ag) by Siemens; VWFpp by Sanquin, collagen binding activ-

ity (VWF:CB) by Technoclone and VWF multimer structure by Krizek et al., 2000.

Results: The following results were obtained: 1) in control group – VWFpp/VWF:Ag 0,49 – 1,8. 2) In group of patients with VWD: a) with VWF:Ag < 5% and VWF:RCO < 5% – 6/7 had VWFpp < 1 (type 3 VWD) and 1/7 – VWFpp/VWF:Ag – 16,0 (type 1); b) with VWF:RCO < 10% and VWF:Ag > 5% (type 2 VWD) – 8/9 had VWFpp/VWF:Ag 2.24-5.72 and in 1/9 – VWFpp/VWF:Ag < 2; c) with VWF:RCO 10-20% – in 5/14 (type 1) – VWFpp/VWF:Ag was > 2 (2.24-6.69) and in 3/15 (type 2) was > 2; d) with VWF:RCO 20-30% – VWFpp/VWF:Ag was > 2 (2.33) in 1/11 with type1 VWD; e) with VWF:RCO 30-40% – VWFpp/VWF:Ag ratio was > 2 in 2/28 (2.78 and 2.2); f) with VWF:RCO 40-50% – in all 24/24 – VWFpp/VWF:Ag ratio was within normal range. AVWS patients with monoclonal gammopathy and aortic stenosis had normal VWFpp/VWF:Ag ratio. Patients with antibodies in a course of monoclonal gammopathy had pathological ratio of VWFpp/VWF:Ag 3.57; 6.54; 4.57 respectively.

Conclusions: Increased VWFpp/VWF:Ag ratio was determined more frequently (51%) in patients with VWD type1 and 2 with VWF:RCO < 20%. In AVWS patients, VWFpp/VWF:Ag ratio was within normal range; except for patients with antibodies against VWF.

P2. DEFICIENCY OF VON WILLEBRAND FACTOR (VWF) HIGH MOLECULAR WEIGHT MULTIMERS (HMWM) IN THE PRESENCE OF NORMAL/ INCREASED ACTIVITY OF BOTH VWF COFACTOR ACTIVITY (VWF:RCO) AND VWF ANTIGEN (VWF:AG) IN PATIENTS WITH SEVERE AORTIC STENOSIS

prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska¹,
lek. med. Dariusz Zakrzewski², dr med. Beata Baran¹,
dr med. Piotr Kunicki¹,
prof. dr hab. med. Tomasz Hryniewiecki²,
prof. dr hab. med. Jerzy Windyga¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Instytut Kardiologii w Warszawie

Introduction: Recurrent bleeds in patients with aortic valve stenosis may be caused by acquired von Willebrand syndrome (AVWS) characterized by deficiency of high molecular weight multimers of VWF resembling type 2A VWD.

Aims: The study was designed to analyse correlation between functional results of VWF (VWF:RCO and VWF:CB) and VWF multimer structure in patients with severe aortic valve stenosis.

Material and methods: Our study was performed in a group of 17 patients (71-87 years old) with severe aortic-valve stenosis (mean transvalvular gradient

> 40 mmHg and aortic valve area < 1,0 cm²). The following tests were performed: factor VIII coagulation activity (VIII:C), VWF ristocetin cofactor activity (VWF:RCo) and antigen (VWF:Ag) by Siemens, VWF collagen binding activity (VWF:CB) by Technoclone, VWF propeptide (VWFpp) by Sanquin; multimers studies were carried out according to Krizek et al 2000.

Results: In 7/17 patients (41%) with aortic stenosis deficiency of HMWM of VWF (similarly to VWD 2A) was determined; VIII:C, VWF:RCo, VWF:Ag were in normal range or elevated (196.57 ± 35.68 ; 171.42 ± 77.56 ; 259.63 ± 159.63 ; 118.28) and VWD:CB decreased in 3/7 patients. The pathological ratios (< 0.7) of VWF:RCo, VWF:CB to antigen levels of VWF were observed respectively in 3/7 and 1/7 patients respectively; VWFpp and VWFpp/VWF:Ag ratio were in normal range. In all patients 7/7 with deficiency of HMWM VWF fraction non specific bleeding episodes were observed.

Conclusions: Results of our study showed that in patients with severe aortic stenosis the use of VWF functional methods and ratios of VWF:RCo/VWF:Ag; VWF:CB/VWF:Ag are insufficient to discriminate cases with deficiency of VWF HMWM fraction.

P3. EFFICACY AND SAFETY OF DAPSONE AS N-LINE THERAPY IN SPLENECTOMIZED ADULT PATIENTS WITH IMMUNE THROMBOCYTOPENIA (ITP) RELAPSED OR REFRACTORY TO RITUXIMAB-SINGLE CENTRE EXPERIENCE

dr Bernadeta Ceglarek,
dr med. Anna Jolanta Sikorska,
prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska,
dr med. Magda Górską-Kosicka,
lek. med. Adela Gwozdowska,
mgr Agata Lewandowska,
mgr Alicja Elżbieta Woźniak,
prof. dr hab. med. Jerzy Windyga

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Introduction: Immune trombocytopenia is an acquired autoimmune disease characterized by increased platelet destruction to the level below $100 \times 10^9/L$. Treatment is necessary in symptomatic patients with active bleeding or in case of very low platelet counts (< $30 \times 10^9/L$). There are several lines of therapy including among others glucocorticoids, intravenous high-dose immunoglobulin, splenectomy and various immunosuppressive agents. Treatment of relapsed or refractory symptomatic ITP patients who failed splenectomy is difficult. One of the salvage therapy is dapsone an antibacterial sulfonamide which has anti-inflammatory effect.

Aim: To evaluate the efficacy and safety of dapsone therapy in ITP patients who relapsed after splenectomy.

Material and methods: 7 subjects (5F; 2M, aged 48-72 years, CIRS 2-7) subjects with chronic ITP who relapsed after splenectomy and in whom without G6PD deficiency was ruled-out were included in the study. All patients had been unsuccessfully treated with steroids, immunoglobulins, other immunosuppressant and splenectomy (neither patient had received thrombopoietin receptor agonists). Median baseline platelet count before dapsone therapy was $1.0-8.0 \times 10^9/L$. The range interval between diagnosis of ITP and dapsone therapy was 2-46 years. Dapsone was administered at a dose of 50-100 mg daily in association with either steroids (7 patients) or immunoglobulins (6 patients).

Results: 1. Dapsone was administered from 33 days to 27 months. The post-dapsone platelet counts were $19.0-101.0 G/l$ after minimum 38 days of therapy. Bleeding diathesis has improved in 6/7 patients. 2. Side effects: diarrhoea, urinary and respiratory tract infections were observed in 4/7 patients. 3. Dapsone therapy was combined with immunoglobulins ($1.0 g/kg/2-5$ days), and/or prednisone ($1.0-0.5 mg/kg/daily$) in 6 patients.

Conclusions: In our small study dapsone demonstrated satisfactory efficacy and safety in patients with chronic ITP who relapsed after splenectomy.

P4. OPERACJE LAPAROSKOPOWE NOWOTWORÓW UKŁADU MOCZOWEGO U CHORYCH Z WRODZONYMI SKAZAMI KRWOTOCZNYMI

dr Sławomir Gajda¹, dr Piotr Jarzowski²,
prof. Jakub Dobruch³, dr Tomasz Szopiński⁴,
dr Roman Sosnowski⁵, prof. Andrzej B. Szczepaniak¹

¹Klinika Chirurgii Ogólnej, Onkologicznej i Metabolicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Oddział Urologii Laparoskopowej, Ogólnej i Onkologicznej, Szpital Uniwersytecki nr 2 w Bydgoszczy

³Klinika Urologii, CMKP Szpital Kliniczny im. prof. W. Orłowskiego w Warszawie

⁴Klinika Urologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

⁵Klinika Urologii, Instytut – Centrum Onkologii w Warszawie

Wstęp: Operacje urologiczne u chorych z wrodzonymi skazami krwotocznymi (WSK) wykonywane bez należytej korekty skazy grożą poważnymi powikłaniami krwotocznymi, stąd konieczność wyrównania niedoborów czynników krzepnięcia i codziennego monitorowania korekcy skazy.

Cel: Celem pracy jest przedstawienie własnych doświadczeń w leczeniu operacyjnym metodą laparoskopową nowotworów układu moczowego u chorych z hemofilią A i B, chorobą von Willebranda i wrodzoną trombocytopenią.

Materiał i metody: W latach 2014–2016 operowano 4 chorych (3 z nowotworami nerek i 1 z nowotworem gruczołu krokowego) z wrodzonymi skazami krwotocznymi. Byli to: pacjent, lat 73, z hemofilią B (HB) (aktywność czynnika IX 12%) i guzem nerki lewej; pacjent, lat 63, z hemofilią A (aktywność czynnika VIII 21%) i rakiem gruczołu krokowego; pacjent, lat 60, z chorobą von Willebranda typu 1 (vWD) i guzem nerki lewej; oraz pacjentka, lat 33, z wrodzoną trombocytopenią (WT) i guzem nerki prawej średnicy 2,3 cm. U wszystkich chorych zmiany nowotworowe zostały rozpoznane w badaniach USG i TK, natomiast u pacjenta z nowotworem prostaty rozpoznanie ustalono w oparciu o MR i biopsję gruczołu krokowego. U pacjentów z hemofilią B i A zastosowano leczenie substytucyjne odpowiednio koncentratem IX i VIII czynnika krzepnięcia przez 9 i 10 dni, utrzymując ich aktywność w granicach 60–130%. U pacjenta z vWD zastosowano leczenie substytucyjne czynnikiem von Willebranda przez 10 dni, utrzymując aktywność czynnika VIII w granicach 101–155%. U pacjentki z WT zastosowano jednorazowe przetoczenie KKP przed operacją, ponadto desmopresynę w dawce 16 µg/dobę przez 3 dni oraz kwas traneksamowy 3 g/dobę przez 7 dni.

Wyniki i wnioski: U pacjentów z hemofilią B i vWD wykonano laparoskopową radykalną nefrektomię z dostępu przezotrzewnowego, u pacjentki z WT częściową nefrektomię z usunięciem guza. U pacjenta z rakiem gruczołu krokowego wykonano radykalną prostatektomię z dostępu pozaotrzewnowego. Wszyscy chorzy przeżyli zabieg operacyjny. Czas operacji wynosił odpowiednio 170, 135, 180 i 190 min. W żadnym przypadku nie zaobserwowano powikłań krwotocznych. W badaniu histopatologicznym u 3 chorych stwierdzono raka jasnokomórkowego nerki, u 1 raka prostaty. U pacjenta z hemofilią B przetoczono łącznie 46 800 j. czynnika IX, u pacjenta z hemofilią A – 25 000 j. czynnika VIII, u pacjenta z vWD – 40 800 j. vWF, u pacjentki z WT – 48 µg desmopresyny. Operacje w skazach krwotocznych mogą być bezpiecznie wykonywane w wysokospecjalistycznych, referencyjnych ośrodkach.

Introduction: Nephrectomy in patients with inherited bleeding disorders performed with no adequate haemostatic coverage may cause severe bleeding complications. Replacement therapy aimed at correction of coagulation factor deficiency is therefore necessary and should be followed by daily monitoring of hemostasis.

Aim: We present our own experience in laparoscopic treatment of urinary tract tumors in patients with hemophilia A and B, von Willebrand disease and inherited platelet disorder.

Material and methods: In years 2014–2016 surgery was performed on four patients with inherited bleeding disorders (3 for kidney tumors, 1 for prostate cancer). The patients: hemophilia B (HB) patient aged 73 (factor IX clotting activity 12%) with left kidney tumor;

hemophilia A (HA) patient aged 63 (factor VIII clotting activity 12%) and prostate cancer; von Willebrand (vWD) type 1 patient aged 60 with left kidney tumor and patient with inherited platelet disorder (IPD) aged 33 with right kidney tumor (2.3 cm diameter). In all 4 patients the neoplastic changes were recognized in CT and US; in HA the diagnosis was based on MR and biopsy. The HA and HB patients received substitution therapy with factor VIII and factor IX concentrate respectively for 9 and 10 days with activity maintained at 60–130% of the normal value. The vWD patient was administered von Willebrand factor concentrate for 10 days and factor VIII activity was maintained at 101–155%. The IPD patient was transfused 1 unit of platelet concentrate prior to surgery, then given desmopressin (16 µg/24 hours for 3 days) and tranexamic acid (3 g/24 hours for 7 days).

Results: Extraperitoneal laparoscopic radical nephrectomy was performed in HB and vWD patients. The IPD patient underwent partial nephrectomy for tumor removal. The HA patient was subjected to extraperitoneal laparoscopic radical prostatectomy. All patients survived the operative procedure. The operating times: 170, 135, 180 and 190 min respectively. No intraoperative bleeding complications were reported. Histopathological investigations revealed renal cell carcinoma, clear cell type in 3 cases and prostate cancer in HA patient. The HB patient received a total of 46 800 units of factor IX; the HA patient – 25 000 units of factor VIII, the vWD patient – 40 800 units of vWF; the IPD patient – 48 µg of desmopressin.

Conclusions: Patients with bleeding disorders can safely be subjected to surgery in reference centers which provide expertise multidisciplinary medical care.

P5. OPERACJE NAPRAWCZE PRZEPUKLIN PACHWINOWYCH U CHORYCH Z WRODZONYMI SKAZAMI KRWOTOCZNYMI

dr Konrad Pielacinski, lek. Michał Kuryłowicz, lek. Diana Iwaniuk, lek. Wojciech B. Dąbrowski, prof. dr hab. n. med. Andrzej B. Szczepanik

Klinika Chirurgii Ogólnej Onkologicznej i Metabolicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Zastosowanie syntetycznych siatek w operacjach przepuklin pachwinowych u chorych z wrodzonymi skazami krwotocznymi podobnie jak u chorych bez skaz stanowi standard leczenia. Z otwartych technik operacyjnych najczęściej stosowana jest technika Lichtensteina, a z minimalnie inwazyjnych – technika TEP (*totally extraperitoneal*), w której, korzystając z toru wizyjnego, implant umieszcza się przedotrzewnowo.

Cel: Celem badania była ocena porównawcza wyników leczenia przepuklin pachwinowych uzyskanych po zastosowaniu techniki TEP i techniki Lichtensteina u chorych z wrodzonymi skazami krwotocznymi.

Materiał i metody: U 19 randomizowanych do grup badawczych mężczyzn w wieku od 20 do 67 lat (śr. 54 lat) wykonano beznapięciową operację naprawczą przepuklin pachwinowych, stosując siatkę częściowo wchłanialną (Ultrapro®, Ethicon). Liczebność grupy operowanej techniką TEP (grupa T) wyniosła 8 chorych (4 z hemofilią A, 1 z hemofilią B i 3 z chorobą von Willebranda), a grupy operowanej techniką Lichtensteina (L) – 11 chorych (5 z hemofilią A, 6 z chorobą von Willebranda). W 16 przypadkach stwierdzono przepuklinę skośną, w 9 prostą, u 6 chorych przepukliny obustronne. U chorych stosowano leczenie substytucyjne, wyrównując niedobory czynników krzepnięcia krwi i utrzymując ich zalecaną aktywność od dnia operacji do 7. doby pooperacyjnej. Kontrole prowadzono w czasie hospitalizacji oraz po upływie 3, 6 i 12 miesięcy po operacji. Nasilenie bólu oceniano, stosując skalę liczbowo-numeryczną (NRS).

Wyniki: Nie stwierdzono zagrażających życiu krwawień pooperacyjnych. Stwierdzono: krwaki powózka nasiennego/moszny u 2 chorych w grupie T i u 1 w grupie L; zasinienia skóry moszny lub okolicy ran w grupie T u 4 i u 5 w grupie L. Ból przewlekły o nasileniu 1–6 wg NRS po 3 miesiącach stwierdzono w grupie T u 2 chorych i u 4 w grupie L, po 6 miesiącach o nasileniu do 5 u 1 w grupie T i u 6 w grupie L, po roku o nasileniu do 5 u 2 chorych w grupie L. W ciągu rocznej obserwacji chorych nie stwierdzono nawrotu przepuklin.

Wnioski: Stosowanie techniki TEP i Lichtensteina u chorych z wrodzonymi skazami krwotocznymi w leczeniu przepuklin pachwinowych jest równie skuteczne w zapobieganiu nawrotom. Techniki te nie powodują zagrażających życiu krwawień, a liczba powikłań w grupach chorych jest porównywalna. Nasilenie i częstość występującego bólu przewlekłego wydają się być większe u operowanych techniką Lichtensteina. Wyniki wymagają potwierdzenia na większej grupie chorych.

(4 hemophilia A, 1 Hemophilia B, 3 von Willebrand) were operated on with TEP technique (group T). Eleven patients (5 hemophilia A, 6 von Willebrand) were subjected to surgery with Lichtenstein technique (group L). 16 patients had indirect hernias, 9 were direct while 6 had bilateral hernias. Replacement therapy of coagulation factor deficiencies was provided and hemostasis monitored and maintained within safe range since surgery until 7th postoperative day. Patients were evaluated during hospital stay and at 3, 6 and 12 postoperative months. For assessment of pain intensity the numeric pain rating scale (NRS) was used.

Results: No life threatening postoperative hemorrhages were observed. In 2 patients of the T group and in 1 of the L group spermatic cord/scrotum hematomas were observed. Four patients in the T group and 5 in L group presented skin bruising around the wound and scrotum. Chronic pain intensity at 3 months (1-6 NRS scale) was reported in 2 patients from the T group and 4 from the L group; after 6 months the intensity was up to 5 in 1 patient of the T group and in 6 of the L group; after one year the intensity was up to 5 in 2 patients of the L group. No hernia recurrence were observed in the 12 month period.

Conclusions: The TEP and Lichtenstein hernia repair techniques are equally effective for preventing hernia recurrence in patients with bleeding disorders. The techniques with adequate replacement therapy carry no risk of fatal hemorrhages and the number of complications is comparable. Intensity and frequency of postoperative chronic pain seems higher in patients subjected to Lichtenstein repair. The results need verification on a larger study group.

P6. CZYNNIK PŁYTKOWY 4 (PF4) A RODZAJ POWIKŁAŃ NACZYNIOWYCH U CHORYCH Z NADPŁYTKOWOŚCIĄ SAMOISTNĄ (NS)

dr hab. n. med. Bożena Sokołowska¹,
prof. dr hab. Anna M. Kowalska^{2,3},
dr n. med. Aleksandra Nowaczyńska¹,
dr n. med. Sylwia Chocholska¹,
prof. dr hab. Ksenia Bykowska⁴,
dr n. med. Adam Walter-Croneck¹,
dr n. med. Tomasz Gromek¹,
lek. med. Magdalena Koziół¹,
dr hab. n. med. Marek Hus¹

¹Katedra i Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²The Children's Hospital of Philadelphia, PA, USA

³Instytut Biologii Medycznej, Polska Akademia Nauk, Łódź

⁴Zakład Hemostazy i Zakrzepic, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Czynnik płytkowy 4 (PF4) modyfikuje funkcję płytek. Jest syntetyzowany w megakariocytach, ma-

Introduction: Standard procedure in inguinal hernia repair is application of synthetic mesh in patients both with or without congenital bleeding disorders. Most frequently used open procedure is the Lichtenstein repair, while TEP (totally extraperitoneal) technique dominates among minimally invasive techniques.

Aim: The aim was to compare the effects of inguinal hernia repair in patients with congenital bleeding disorders performed with either Lichtenstein or TEP techniques.

Material and methods: Nineteen male patients aged 20-67 (average 54 years) were randomized to 2 study groups for tension free hernia repair with partially absorbable mesh (Ultrapro®, Ethicon). Eight patients

gazynowany w ziarnistościach alfa płytek i uwalniany z nich dopiero podczas aktywacji. Jedynie fizjologiczne stężenie PF4 warunkuje powstanie skrzepu stabilnego. W nadpłytkowości samoistnej (NS) obserwujemy zarówno powikłania zakrzepowe, jak i krwotoczne. Być może jednym z powodów tak skrajnie różnych powikłań naczyniowych jest nieprawidłowa zawartość i uwalnianie PF4.

Cel: Celem pracy była ocena stężenia PF4 w surowicy krwi i lizatach płytkowych u chorych z NS w kontekście różnych rodzajów powikłań naczyniowych.

Materiał i metody: Badaniami objęto 106 chorych z NS, 80 kobiet i 26 mężczyzn w wieku od 23–82 lat, śr. 54 lata. U 22 chorych obserwowano powikłania krwotoczne (KRW), u 21 – zakrzepowe (ZAK). Grupę odniesienia (GO) stanowiło 20 zdrowych osób (14 kobiet i 6 mężczyzn w wieku od 31–54 lat, śr. 41 lat). Oznaczano obecność mutacji JAK2, MPL, aktywność cz. VIII i XII, stężenie fibrynogenu, aktywność i antygen cz. von Willebranda oraz PF4 w surowicy krwi i lizatach płytkowych.

Wyniki: Mutację JAK 2 wykryto u 48 (45,28%) chorych z NS. Występowała ona częściej u chorych z ZAK (67%) niż u chorych z KRW (23%) ($p < 0,0001$). Chorzy z ZAK w stosunku do chorych z KRW byli istotnie statystycznie starsi (48–67, średnio 61 versus 36–60, śr. 48,5), mieli wyższe wartości Ht, aktywności i antygeny czynnika von Willebranda oraz aktywności czynnika VIII. U chorych z NS i ZAK istotnie statystycznie częściej występowało nadciśnienie tętnicze i poziom cholesterolu powyżej 200 mg%. Stężenie PF4 w surowicy chorych z NS było wyższe niż w GO. W celu wyeliminowania wpływu podwyższonej liczby płytek na stężenie PF4 wyliczono współczynnik stężenia PF4 na 1 mln płytek. Współczynnik ten okazał się istotnie statystycznie niższy u chorych z NS w stosunku do GO ($p < 0,001$) oraz różnił się w zależności od rodzaju powikłań naczyniowych. U chorych z NS i KRW współczynnik ten był istotnie statystycznie niższy w stosunku do chorych z NS i ZAK (NS+KRW mediana 95,42 PF4 (U)/mln płytek (P25-75; 74,05–120,66), NS+ZAK mediana 121,29 PF4 (U)/mln płytek (P25-75; 93,39–154,88, $p < 0,05$). Natomiast nie zanotowano istotnych różnic w stężeniu PF4 w lizatach płytkowych chorych z NS w stosunku do GO oraz w zależności od rodzaju powikłań naczyniowych.

Wnioski: U chorych NS i KRW podczas tworzenia skrzepu uwalniana jest niedostateczna ilość PF4 niewystarczająca do tego, aby powstały skrzep był pełnowartościowy.

P7. SUCCESSFUL MANAGEMENT OF SEVERE BLEEDING WITH COMBINED PLATELET TRANSFUSION, rFVIIA AND TRANEXAMIC ACID THERAPY IN GLANZMANN THROMBASTHENIA PATIENT

dr Bernadeta Ceglarek¹, dr med. Anna Jolanta Sikorska¹,
prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska¹,
prof. dr hab. med. Krystyna Maślanka¹,
dr med. Andrzej Misiak¹, dr med. Wojciech Dąbrowski¹,
prof. dr hab. med. Andrzej B. Szczepanik¹,
dr med. Justyna M. Teliga-Czajkowska²,
prof. dr hab. med. Jerzy Windyga¹

¹Institut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Warszawski Uniwersytet Medyczny

Introduction: Glanzmann thrombasthenia (GT) is a rare autosomal recessive bleeding disorder caused by quantitative or qualitative defect of platelet glycoprotein $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$. The bleeding tendency in GT is variable; some patients have epistaxis and oral mucosal bleeding, others experience severe, life-threatening hemorrhages. Standard treatments for GT comprise platelet concentrate transfusions, rFVIIa and antifibrinolytic agents.

Aim: Report of successful therapy with rFVIIa in a 48 year old female with GT diagnosed at the age of 2.

Material and methods: The patient experienced 10 severe bleeding episodes (menorrhoea, epistaxis, gingivorhoea, gastrorrhagia) and was treated with platelet transfusions and rFVIIa. She was admitted to IHTM in a severe condition with abdominal pain, nausea, vomiting blood and stomach contents. Lab tests revealed anaemia and hyperbilirubinaemia. No alloimmunization to human leukocyte antigens (HLA) and/or platelet membrane GPIIb/IIIa was determined. Gastro-duodenoscopy and laparoscopic cholangiography by duodenal route were performed under haemostatic cover of platelet transfusions. The diagnosis: reflux oesophagitis, haemorrhagic gastritis, severe gastric ulcer and Vater's papilla bleeding, major duodenal papillitis and cholecystolithiasis. Treatment consisted in platelet (6 units) and RBC (18 units) transfusions as well as rFVIIa (total dose of 42mg) and tranexamic acid administrations and several gastric coagulations. Applied therapy allowed to control the bleeding. The patient recovered and cholecystectomy was successfully performed 10 months later. Isoantibodies against GP IIb-IIIa were then detected and 9 severe bleeding episodes followed at 2-3 month intervals (gastrorrhagia and Vater's papilla bleeding, Vater's papilla bleeding, transverse colon hemorrhage). Successful therapy was administered with argon coagulation-9 procedures, HLA compatible platelet transfusions (47 units), transfusions of RBC (38 units) and tranexemic acid.

Results and conclusions: Management of severe bleeding in GT proved successful in our case owing to combined use of rFVIIa, tranexamic acid and HLA-com-

patible platelet transfusion as well as and RBC transfusions supported by argon coagulations and cholecystectomy.

move residual parts of the tumor and these combined with simultaneous FAPG application significantly improve the quality of life of hemophilia patients.

P8. PSEUDOTUMORS IN HEMOPHILIA: EFFECTIVE SURGERY WITH APPLICATION OF FROZEN AUTOLOGOUS PLATELET GEL

dr med. Andrzej Misiak, dr Bernadeta Ceglarek,
dr med. Anna Jolanta Sikorska,
prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska,
mgr Jolanta Swornóg,
prof. dr hab. med. Alfred Jerzy Meissner,
dr med. Elżbieta Lachert,
prof. dr hab. med. Andrzej B. Szczepanik

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Introduction: Hemophilic pseudotumor (HP) is an encapsulated, chronic, slowly growing hematoma. Frozen autologous platelet gel (FAPG) contains a number of growth factors with beneficial effect on wound healing and post surgery tissue reconstruction.

Aim was to present our experience in management of hemophilic pseudotumors. The treatment consisted in surgical procedures followed by application of FAPG.

Material and methods: Case reports: Four haemophilic patients aged 38-57 were subjected to surgical treatment within the last 9 years. Case 1: Hemophilia A (38 yrs) patient with HP of left femur tumor (21 x 12 x 12 cm) pressed to popliteal fossa and limited knee extension. Surgery consisted in tumor evacuation with excision of its pseudocapsule and drainage. No tumor recurrence was reported. Case 2: A 55-year old hemophilia A patient admitted to IHTM for recurrent HP in left retroperitoneal region 33 x 21 x 20 cm tumor pressing on left pelvic bone and hip joint. The front wall of the tumor was removed, the cavity drained and filled with FAPG. Replacement therapy with factor VIII and 18 portions of FAPG were applied into the HP cavity. Case 3: A 41-year-old Hemophilia A patient (41 yrs) with diagnosed factor VIII inhibitor (0.7 BU) and HP of the left iliopsoas muscle infiltrating iliac bone. HP mass was surgically removed and tumor cavity was drained. Replacement factor VIII therapy and 23 portions of FAPG were applied into the HP cavity. A significant reduction of HP cavity size was achieved and the wound healed. Case 4: A 57-year Hemophilia B (57 yrs) patient with bleeding HP (mass 2.0 kg), damaging the left iliac bone, sacral bone and one lumbar vertebra. HP mass was removed. Infusion drainage, antibiotics 24 portions of FAPG and factor IX concentrate were applied.

Results and conclusions: One-stage surgery complete removal of HP from the abdominal cavity is often difficult. Further surgical procedures are required to re-

P9. FROZEN AUTOLOGOUS PLATELET GEL AND FIBRIN GLUE IN HEMOPHILIA A, B AND VON WILLEBRAND SURGICAL PATIENTS

dr med. Andrzej Misiak, dr med. Elżbieta Lachert,
dr Bernadeta Ceglarek, dr med. Anna Jolanta Sikorska,
prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska,
dr med. Wojciech Dąbrowski, mgr Ewa Potocka,
mgr Jolanta Swornóg,
prof. dr hab. med. Magdalena Łętowska,
prof. dr hab. med. Andrzej B. Szczepanik

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Introduction: Haemostatic, germicidal and regenerative properties of platelet-derived growth factors justify their application in patients with congenital hemorrhagic disorders for hard-to-heal wounds or improvement of hemostasis in clean surgical wounds.

Aim: To estimate the safety and effectiveness of frozen autologous platelet gel (FAPG) and fibrin glue (FG) applied to clean postoperative or chronically infected wounds in patients with congenital hemorrhagic disorders.

Material and methods: Material : 17 surgical procedures were performed in 13 patients, aged 23-57years (11 male, 2 female), 9 – hemophilia A, 1 – hemophilia B, 3 – von Willebrand disease. The performed surgical procedures were: strumectomy (4), fasciotomy of forearm compartment syndrome (1), necrotic skin excision after arthroplasty (3), foot and hand trauma (2), removal of hemophilic pseudotumor (3 patients, 7 procedures). Methods: FAPG was obtained by thrombopheresis using Cobe-Spectra; FG by cryoprecipitation of autologous plasma. Sealants were divided into portions, immediately frozen and thawed before application. Both were activated by thrombin solution and applied on either clean or infected wounds. Activated sealants were applied to infected wounds on Bactigras dressing or directly on clean wounds. In the perioperative period all patients were supplemented with deficient clotting factors.

Results: Clean wounds healed by primary adhesion with no bleeding or inflammatory reactions. Infected wounds presented rapid granulation tissue formation and reduction of ulceration area. For hemophilic pseudotumors a gradual decrease in cavity size was observed.

Conclusions: In patients with congenital hemorrhagic disorders application of platelet gel and fibrin glue to either clean or infected wounds presented accelerated healing and shorter hospital stay.

P10. MAJOR DENTAL SURGERY IN PATIENTS WITH GLANZMANN THROMBASTHENIA (GT)

dr med. Anna Jolanta Sikorska¹,
dr Bernadeta Ceglarek¹,
prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska¹,
lek. med. Grzegorz Czubak¹,
prof. dr hab. med. Krystyna Maślanka¹,
dr med. Beata Baran¹,
dr med. Justyna M. Teliga-Czajkowska²,
prof. dr hab. med. Jerzy Windyga¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Warszawski Uniwersytet Medyczny

Introduction: Glanzmann's thrombasthenia (GT) is a rare inherited autosomal recessive disorder caused by a quantitative or qualitative defect of platelet glycoprotein (GP) IIb/IIIa. Bleeding episodes in GT are treated with platelet transfusions, antifibrinolytic agents and recombinant activated factor VII (rFVIIa) which is an effective alternative to platelet concentrate (PC).

Aim: Report on effective use of rFVIIa in three GT patients undergoing invasive dental procedures.

Material and methods: Platelet aggregation was measured by light transmission aggregometry (LTA). Platelet GP expression level was detected by flow cytometry using monoclonal antibodies anti GP IIb/IIIa (Beckman Counter); anti GPIb/IX/V (Alexis Biochemicals); anti GP IIIa (Dako). Case reports: Three patients (cases 1, 2, 3) diagnosed with GT (man aged 44, two women aged 29 and 40) underwent tooth extractions under cover of rFVIIa (Novoseven) and acidum tranexamicum. Spongostan anal seams were applied. rFVIIa infused 2 hrs before procedure and after each dental extraction at different time intervals until resoration of hemostasis (dose: 90 µg/kg bw). Case 1: Extraction of tooth 36 – bleeding for 86 hrs; hemostasis restored after 15 doses of rFVIIa. Case 2: Extractions of teeth 36 and 37 – hemostasis restored after 22 hrs following transfusion of 2 PC units. Extractions of teeth 14 and 16 – bleeding for 60 hrs and hemostasis restored after 9 doses of rFVIIa. Extractions of teeth 46, 47 and 21 – bleeding for 72 hrs; hemostasis restored after infusion of 7 doses of rFVIIa. Case 3: Extraction of tooth 36 – bleeding continued for 57 hrs and hemostasis restored after 10 doses of rFVIIa. Extraction of tooth 18 – hemostasis restored after 57 hrs (11 doses of rFVIIa).

Results and conclusions: rFVIIa has been proven effective in the management of post-extraction bleedings in GT patients. Restoration of hemostasis depended on individual medical history, extensity of dental procedure and perioperative management.

P11. THE OCCURRENCE OF PROTHROMBOTIC MUTATIONS IN A PATIENT WITH VON WILLEBRAND DISEASE AND SYMPTOMATIC BLEEDING DISORDER

dr med. Anna Jolanta Sikorska¹,
dr med. Justyna M. Teliga-Czajkowska²,
dr Bernadeta Ceglarek¹,
prof. dr hab. med. Ksenia Bykowska¹,
dr med. Beata Baran¹, prof. dr hab. med. Jerzy Windyga¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Warszawski Uniwersytet Medyczny

Introduction: VWD is genetically inherited and is clinically heterogeneous. Moreover, the coexistence of other hemostatic defects may enhance or weaken the predisposition for bleeding.

Aim: Assessment of the impact of prothrombotic mutations on the clinical picture of bleeding disorder in a patient with VWD.

Material and methods: Activity of FVIII (FVIII:C) and von Willebrand factor (VWF), ristocetin cofactor activity (VWF:RCo) as well as of VWF factor antigen (VWF:Ag) were determined using Siemens reagents (BCS Siemens). The method of Křížek et al. (2000) was used for analysis of von Willebrand factor multimers. The G20210A mutation in the prothrombin gene, the G1691A mutation in the V (factor V Leiden), and C677T methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR) mutation were determined using RFLP/PCR (EURx, Poland). Case report: A 22 year old woman was referred to the hospital with symptoms of bleeding disorder. Bleeding episodes appeared early in childhood, became more intense after she turned 6 and consisted in nose and mouth bleeds, extensive bleeding following extraction of milk teeth, and heavy menstrual bleeding. Medical history revealed occurrence of VTE and arterial thrombosis in the families of both mother and father as well as severe bleeding episodes in the mother's family (bleeding into the central nervous system). The patient was diagnosed with von Willebrand disease type 1: FVIII:C – 108% ; VWF:RCo – 29%; VWF:Ag – 44% and VWF:RCo/VWF:Ag ratio 0.66; the VWF multimer structure was normal. Further tests revealed the presence of heterozygous factor V Leiden mutation, heterozygous G20210A mutation of prothrombin gene and homozygous C677T MTHFR mutation coexistent with hyperhomocysteinemia. Family studies showed heterozygous factor V Leiden mutation and heterozygous C677T MTHFR gene mutation with hyperhomocysteinemia in the mother and G20210A prothrombin gene mutation (heterozygous) and MTHFR C677T mutation (homozygous) coexistent with hyperhomocysteinemia in the father and his brother.

Results and conclusions: The prothrombotic mutations does not show significant impact on hemostatic function in the patient with type 1 VWD and does not

prevent confirmed by test results were insufficient to inhibit the bleeding symptoms in the patient diagnosed with type 1 von Willebrand disease.

P12. DIAGNOSTYKA I LECZENIE NABYTEJ HEMOFILII – PREZENTACJA 9 PRZYPADKÓW Z JEDNEGO OŚRODKA W POLSCE

dr hab. Bożena Sokołowska¹,
dr n. med. Justyna Kozińska¹,
lek. med. Magdalena Kozioł¹,
lek. med. Katarzyna Radko¹,
dr n. med. Tomasz Gromek¹,
dr hab. n. med. Ewa Wąsik-Szczepanek¹,
dr n. med. Dariusz Szczepanek²,
dr hab. n. med. Marek Hus¹

¹Katedra i Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Katedra i Klinika Neurochirurgii i Neurochirurgii Dziecięcej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Hemofilia nabyta (AH) jest nagle występującą, ciężką skazą krwotoczną, dotyczącą zarówno mężczyzn, jak i kobiet, która w przypadku zbyt późno postawionej diagnozy może doprowadzić do śmierci u 8, a nawet 22% chorych.

Cel: Celem pracy jest prezentacja 9 przypadków nabytej hemofilii pochodzących z jednego ośrodka w Polsce, w których dzięki właściwej diagnozie i leczeniu uzyskano remisję choroby.

Materiał i metody: W okresie od 2002 r. do 2015 r. 9 pacjentów z nabytą hemofilią było leczonych w Klinice Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku UM w Lublinie. Wśród chorych było 4 mężczyzn i 5 kobiet (wiek 29–74 lata, średnio 50 lat). U dwóch kobiet wystąpienie AH poprzedzone było ciążą, u pozostałych podłożem choroby najprawdopodobniej były: łuszczyca, przewlekłe zapalenie wątroby i pęcherzyca liściasta. U 2 mężczyzn powodem nabytej skazy krwotocznej mogła być amyloidozą leczoną zabiegiem autoprzeszczepienia szpiku kostnego, u jednego MGUS i wieloletnie przyjmowanie inhibitorów płytkowych, u jednego miała ona charakter idiopatyczny. Najczęstszą kliniczną manifestacją choroby były rozległe wylewy podskórne i krwawienia śródmięśniowe. Jedna z pacjentek została poddana zabiegowi operacyjnemu z powodu obecności krwiaków w jamie brzusznej. W efekcie operacji wystąpiło przedłużające się krwawienie z rany pooperacyjnej. U innego pacjenta pierwszą manifestacją choroby był napad padaczkowy spowodowany ogniskiem krwotocznym w ciele modelowatym mózgu.

Wyniki: U większości chorych stwierdzono znaczące wydłużenie APTT (w jednym przypadku był on wręcz nieoznaczalny), co wraz z charakterystycznym obrazem

klinicznym i brakiem skazy krwotocznej w wywiadzie pozwoliło wysnuć podejrzenie AH. Specjalistyczna diagnostyka laboratoryjna trwała najczęściej ok. 2–3 godzin. Chorzy zdiagnozowani w 2010 r. lub później leżeni byli za pomocą rekombinowanego aktywowanego czynnika VII(rVIIa) lub koncentratu aktywowanych czynników kompleksu protrombiny (aPCC). Natomiast chorzy zdiagnozowani wcześniej otrzymywali desmopresynę (DDAVP), koncentraty czynnika VIII lub osocze świeżo mrożone (FFP). W celu eliminacji inhibitora najczęściej stosowano prednizon z cyklofosfamidem.

Wnioski: Popularyzowanie wiedzy na temat nabytej hemofilii przyczynia się do skrócenia czasu do postawienia właściwej diagnozy. Jedynie leczenie zastosowane jak najszybciej po uzyskaniu rozpoznania może doprowadzić do remisji choroby i uratować pacjentowi życie.

P13. ENDOSKOPOWA KOAGULACJA ARGONOWA KRWAWIENIA Z WNĘTRZA OLBRYMIEGO PSEUDOGUZA HEMOFILOWEGO U CHOREGO NA HEMOFILIĘ B

dr Andrzej Misiak, prof. Andrzej B. Szczepanik,
dr Wojciech P. Dąbrowski

Klinika Chirurgii Ogólnej, Onkologicznej i Metabolicznej,
Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Pseudoguz hemofilowy (PH) są rzadkim i ciężkim powikłaniem spostrzeganym u 1–2% chorych z ciężką postacią hemofilii A lub B. Umiejscowienie zmian w kościach i przylegających mięśniach poprzedzone jest nawracającymi wylewami krwi. Pobudzenie komórek kościogubnych powoduje liżę kości i jej deformację. Po chirurgicznych próbach usunięcia guza występują nawroty krwawień, trudne do opanowania wyłącznie za pomocą substytucji czynnikiem niedoborowym krzepnięcia.

Cel: Celem pracy było przedstawienie własnych doświadczeń w leczeniu endoskopowym krwawienia do wnętrza PH u chorego na hemofilię B po uprzedniej operacyjnej próbie jego usunięcia.

Materiał i metody: Chory, 57 lat, z ciężką postacią hemofilii B, po raz pierwszy przyjęty z powodu PH znacznie zniekształcającego lewe biodro i pośladek, z przewlekłymi dolegliwościami od 15 lat, sepsą, temp. 39°C i krwawieniem z przetoki okolicy kości krzyżowej. W badaniach obrazowych stwierdzono rozległy policykliczny guz o wymiarach 30 x 30 x 20 cm obejmujący zniszczony talerz i trzon kości biodrowej po stronie lewej. Chorego operowano, usuwając masy martwicze (stare zwłókniałe skrzepy i zniszczoną kość o masie 2 kg). Zastosowano drenaż płuczający guza i substytucję czynnikiem IX wg ustalonych standardów. Do jamy PH aplikowano

wano co 3 dni żel płytkowy, uzyskując zmniejszenie jamy. Po upływie 8 miesięcy chorego przyjęto ponownie z powodu krwawienia z wnętrza PH. Po nieskutecznym leczeniu substytucyjnym zdecydowano się na endoskopię komory PH. Po wyflukaniu komory pseudoguza, przez otwór przetoki do jego jamy wprowadzono fiberoskop GIF-H180 (Olympus®). We wnętrzu guza podzielonym na kilka komór, w odległości 12 cm od brzegu przetoki, stwierdzono krwawiące naczynie tętnicze (Forrest Ia), które skoagulowano beamerem argonowym (warunki: 35 Wat, przepływ argonu 1 l/min, puls 1 s), uzyskując zatrzymanie krwawienia. Chorego wypisano w stanie dobrym ze znacznie zmniejszonymi wymiarami guza.

Wyniki i wnioski: W wykonanym kontrolnym badaniu endoskopowym wnętrza pseudoguza po upływie miesiąca nie stwierdzono krwawienia. W czasie obserwacji chorego przez 1,5 roku stosowano okresowo substytucję czynnikiem IX krzepnięcia. Wydzielina martwiczo-ropna z przetoki utrzymuje się nadal. Nie spostrzegano nawrotu krwawienia z pseudoguza. Endoskopowe zatrzymanie krwawienia z wnętrza pseudoguza hemofilowego za pomocą koagulacji argonowej jest oryginalnym, unikatowym w skali światowej rozwiązaniem niebywale trudnego problemu klinicznego, jakim są krwawiące pseudoguzi hemofilowe.

P14. POWIKŁANIA KRWOTOCZNE U CHORYCH Z NADPŁYTKOWOŚCIĄ SAMOISTNĄ – OPISY PRZYPADKÓW

dr Marek Kriegler¹, dr Maja Twardosz¹,
dr Ilona Szypuła-Perkosz¹, prof. Sebastian Grosicki²

¹Oddział Hematologiczny, SPZOZ, Zespół Szpitali Miejskich, Chorzów

²Zakład Profilaktyki Chorób Nowotworowych, Wydział Zdrowia Publicznego, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Wstęp: Nadpłytkowość samoistna (ET) charakteryzuje się zwiększoną liczbą krwinek płytkowych, nawracającą zakrzepicą żylną i tętniczą, rzadziej krwawieniami.

Cel: Celem pracy było opisanie przypadków chorych na ET, u których doszło do powikłań krwotocznych.

Materiał i metody: Opisy przypadków: 1. 28-letni pacjent z ET leczony od 5 lat anagrelidem bez incydentów zakrzepowych oraz krwawień w wywiadzie został przyjęty z powodu objawów masywnego krwawienia z przewodu pokarmowego w przebiegu uszkodzenia połączenia przełykowo-żołądkowego (zespół Mallory-Weiss). Wartość PLT wynosiła 245 G/l. Każdorazowo po endoskopowej skleroterapii i klipsowaniu uzyskiwano kilkunastogodzinne ustąpienie krwawienia, które nawracało. Chory w trakcie hospitalizacji otrzymał łącznie 23 jednostki preparatów krwiopochodnych, wit K i.v. Cyclonaminę i.v., Controloc, leki propulsyjne. W trakcie pobytu poziom PLT utrzymywał się w granicach

245-728 G/L. Chory został wypisany po 9-dniowym leczeniu. 2. U 54-letniej chorej leczonej z powodu ET (bcr/abl ujemny, JAK2 V617F dodatni) przed postawieniem diagnozy wystąpiło dwukrotne w ciągu 3 miesięcy krwawienie z przewodu pokarmowego wymagające substytucji KKCZ. Wykonano zabieg mukozektomii polipa kątnicy o wysokim stopniu dysplazji. W morfologii narastająca nadpłytkowość do 1970 G/L. Po zabiegu obserwowano ponownie cechy krwawienia z przewodu pokarmowego wymagające substytucji KKCZ. Po włączeniu skutecznego leczenia anagrelidem krwawienia nie powtórzyły się. 3. 55-letnia pacjentka leczona od 14 lat z powodu ET. Od 10 lat pobierała anagrelid. W trakcie kolejnej wizyty u chorej stwierdzono cechy anemizacji. Podejrzewając transformację do mielofibrozy, wykonano biopsję szpiku, wykluczając to podejrzenie. W wywiadzie krwotoczne miesiączki. U chorej wykonano zabieg abrazji jamy macicy. Chora wymagała substytucji KKCZ.

Wnioski: Badania obejmujące duże grupy chorych pozwoliły na stwierdzenie, że dominującym typem zaburzeń hemostazy, występującym u ok. 70% chorych z objawową ET jest tendencja do zakrzepów żylnych i zatorów tętniczych. Krwawienia występują jedynie u 12–19% chorych i mogą mieć charakter zagrażający życiu. Nieprawidłowa agregacja, zwiększona ekspresja całkowitej liczby antygenów CD36 obserwowane przed leczeniem nie ulegają zmianie mimo obniżenia liczby płytek.

P15. ANALIZA DYNAMIKI FORMOWANIA ORAZ WŁAŚCIWOŚCI SKRZEPU U PACJENTÓW ZE ZMNIEJSZONĄ ZAWARTOŚCIĄ FIBRYNOGENU

dr n. med. Beata Baran, dr n. med. Edyta Odnoczek,
dr n. med. Ewa Stefańska-Windyga, Anna Buczma,
Adela Gwozdowska, dr n. med. Anna Sikorska,
dr n. med. Bernadetta Ceglarek,
dr n. med. Magdalena Górka-Kosicka,
dr n. med. Robert Wasilewski, Sławomir Jurek,
prof. dr hab. n. med. Jerzy Windyga

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Niedobór fibrynogeny charakteryzuje bardzo heterogenny przebieg kliniczny. U pacjentów ze zmniejszoną zawartością fibrynogeny w osoczu opisywane są zarówno powikłania krwotoczne, jak i zakrzepowe.

Cel: Ocena przydatności badania tromboelastometrycznego przy określaniu właściwości skrzepu oraz nasileniu objawów klinicznych u pacjentów z obniżoną zawartością fibrynogeny.

Materiał i metody: Badaniem objęto 39 pacjentów (26 [66,7%] kobiet, 13 [33,3%] mężczyzn) ze stwierdzoną zmniejszoną zawartością fibrynogeny w osoczu. Od

każdego pacjenta zebrano informacje o towarzyszących objawach klinicznych. U wszystkich zakwalifikowanych osób wykonano oznaczenia fibrynogenu metodą Clausa, czasu trombinowego oraz przeprowadzono badanie tromboelastometryczne.

Wyniki i wnioski: W badanej grupie zawartość fibrynogenu wynosiła 0,42–1,76 g/l (norma: 2–5 g/l). Czas trombinowy przedłużony był we wszystkich przypadkach (22–51,05 s; norma: < 21 s). W badaniu tromboelastometrycznym maksymalna spójność skrzepu (MCF) w teście exTEM wynosiła 32–70 mm (norma: 50–72 mm); w teście fibTEM 2–21 mm (norma: 9–25 mm). U żadnej z badanych osób nie wykryto współistniejącej skazy krwotocznej ani trombofilii. W 13/39 (33,3%) przypadkach zmniejszoną zawartość fibrynogenu stwierdzono w trakcie rutynowej diagnostyki okołoperacyjnej (brak objawów). U 18/39 (46,2%) obserwowano objawy skazy krwotocznej; 6/39 (15,4%) przeżyło epizody zakrzepicy, a u 2 kobiet (5,1%) występowały poronienia. Najwyższe średnie wartości MCF uzyskano wśród osób bez objawów: MCF-exTEM mieściły się w zakresie 32–69 mm (średnia: 66,62 ± 7,67; mediana: 68,00); MCF-fibTEM 2–19 mm (średnia: 11,08 ± 5,42; mediana: 11,00). Największy odsetek pacjentów z obniżonymi wartościami MCF stwierdzono w grupie z objawami skazy krwotocznej (14/18 [77,8%]); MCF-exTEM tych osób wynosił 36–70 mm (średnia: 51,00 ± 8,68; mediana: 49,00), MCF-fibTEM 3–21 mm (średnia: 7,72 ± 4,65; mediana: 7,00). U pacjentów, którzy przeżyli epizod zakrzepicy, wartości MCF-exTEM wynosiły 39–60 mm (średnia: 53,67 ± 3,39; mediana: 53,00), MCF-fibTEM 6–16 mm (średnia: 9,67 ± 3,502; mediana: 9,00). Poznanie dynamiki formowania i właściwości skrzepu oraz zrozumienie patofizjologii i przebiegu klinicznego zaburzeń struktury fibrynogenu może być pomocne w optymalizacji leczenia hemostatycznego i/lub przeciwkrzepliwego. Badanie tromboelastometryczne wydaje się być przydatnym narzędziem zarówno w diagnostyce, jak i ocenie ryzyka wystąpienia krwawień czy powikłań zakrzepowych u pacjentów ze zmniejszoną zawartością fibrynogenu.

P16. TEST GENERACJI TROMBINY DODATKOWYM NARZĘDZIEM DIAGNOSTYCZNYM U PACJENTÓW Z ŁAGODNĄ I UMIARKOWANĄ HEMOFILIĄ A Z ROZBIEŻNOŚCIĄ WYNIKÓW OZNACZEŃ AKTYWNOŚCI CZYNNIKA VIII

dr n. med. Beata Baran¹, dr n. med. Edyta Odnoczek¹,
dr n. med. Ewa Stefańska-Windyga¹, Anna Buczma¹,
prof. dr med. Anna Pavlova²,
prof. dr med. Johannes Oldenburg²,
prof. dr hab. n. med. Jerzy Windyga

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Instytut Hematologii Eksperymentalnej i Transfuzjologii w Bonn, Niemcy

Wstęp: Zjawisko rozbieżności wyników aktywności czynnika VIII (FVIII:C) mierzonej metodą koagulacyjną jednostopniową (FVIII:Ckoag) i chromogenną (FVIII:Cchr) opisywane jest u 30–50% pacjentów z łagodną i umiarkowaną hemofilią A (ŁUHA). Zastosowanie tylko jednej metody w procesie diagnostycznym może prowadzić do postawienia błędnej diagnozy. Dodatkowo brakuje międzynarodowych wytycznych określających typ testu zalecanego w diagnostyce ŁUHA.

Cel: Ocena przydatności testu generacji trombiny (TGT) w procesie diagnostycznym pacjentów z łagodną i umiarkowaną hemofilią A.

Materiał i metody: Badaniem objęto 51 chorych (w wieku 18–79 lat, mediana 37 lat) z 48 rodzin z potwierdzoną ŁUHA. U wszystkich włączonych pacjentów oraz w grupie porównawczej 21 zdrowych mężczyzn (w wieku 21–63 lat, mediana 35 lat) wykonano oznaczenia: FVIII:Ckoag, FVIII:Cchr i TGT. Rozbieżność wyników stwierdzano gdy współczynnik różnicy FVIII:Ckoag/chr wynosił ≥ 2 lub $\leq 0,5$.

Wyniki i wnioski: W teście generacji trombiny średnia wartość maksymalnego stężenia trombiny (T_{max}) była niższa u pacjentów z ŁUHA w porównaniu z T_{max} zdrowych osób z grupy porównawczej (wynosiła odpowiednio 43,06 ± 14,79 nM vs 92,20 ± 1,74 nM). Rozbieżność wyników FVIII:C stwierdzono u 25/51 pacjentów (49%). We wszystkich przypadkach FVIII:Ckoag była wyższa od pomiarów FVIII:Cchr – współczynnik wynosił 2–16,7 (średnia: 4,26 ± 3,32; mediana: 3,30). U 14/25 pacjentów ze stwierdzoną rozbieżnością (54%) wyniki pomiaru FVIII:Ckoag i FVIII:Cchr dawały podstawę do rozpoznania hemofilii o różnym stopniu ciężkości. Średnia wartość T_{max} (37,30 ± 11,91 nM, mediana: 35,90 nM) tej grupy pacjentów była niższa niż w grupie badanej ŁUHA (43,06 ± 14,79 nM, mediana 43,30 nM). U jednego pacjenta z wynikiem FVIII:Ckoag – 74 j.m./dl (mieszczącym się w zakresie wartości referencyjnych) oraz FVIII:Cchr – 38 j.m./dl (pozwalającym na rozpoznanie łagodnej hemofilii A) T_{max} – 58,9 nM było najwyższe w badanej grupie ŁUHA, natomiast niższe od wyników

uzyskiwanych u zdrowych osób grupy porównawczej (78,3–115,1 nM).

Wnioski: Wyniki obecnego badania wskazują na istnienie korelacji między T_{max} a FVIII:C. Jednoczesny pomiar FVIII:Ckoag lub FVIII:Cchr i T_{max} trombiny pozwala na odróżnienie chorych na ŁUHA od zdrowych osób. TGT wydaje się być użytecznym narzędziem laboratoryjnym w procesie diagnostycznym ŁUHA. Szczególnie w przypadku aktywności FVIII:C oscylującej wokół 50 j.m./dl, wartość T_{max} może pomóc w podjęciu decyzji o potwierdzeniu bądź wykluczeniu łagodnej hemofilii A.

P17 LASEROTERAPIA PRZY KRWAWIENIU DO MIĘŚNIA UDA U PACJENTA Z TROMBASTENIĄ GLANZMANNĄ

**doc. Paweł Łaguna¹, lek. Barbara Choińska¹,
dr Karol Scipio Del Campo²,
prof. Michał Matysiak Matysiak¹**

¹Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii WUM

²Katedra i Klinika Pediatrii i Kardiologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Trombastenia Glanzmanna jest chorobą o podłożu genetycznym, dziedziczną autosomalnie recesywnie. Choroba powoduje objawy skazy krwotocznej, która charakteryzuje się występowaniem od wczesnego dzieciństwa krwawień z dziąseł, nosa, przewodu pokarmowego, krwimocz, wybroczyn do skóry. Występują także przedłużone krwawienia pourazowe i pooperacyjne, a u kobiet krwawienia z dróg rodnych. Leczeniem pierwszego rzutu ciężkich krwawień są transfuzje koncentratu płytek krwi lub rekombinowanego czynnika VIIa (rVIIa) w przypadku odporności na transfuzje.

Cel: Głównym celem naszej pracy jest przedstawienie efektów klinicznych zastosowania laseroterapii w krwawieniu do mięśnia uda u pacjenta z trombastenią Glanzmanna.

Materiał i metody: 13-letni chłopiec z trombastenią Glanzmanna został przyjęty do szpitala po upadku z roweru z powodu narastającego krwawienia do mięśni prawego uda. W badaniu przedmiotowym w obrębie prawego uda stwierdzono krwiak, obwód prawej kończyny dolnej był większy o 15 cm w porównaniu z kończyną lewą. Miejsce wylewu było bolesne, widoczne było wyraźne zasinienie. Z powodu braku odpowiedzi na transfuzje płytek krwi zastosowano rVIIa, uzyskując kontrolę krwawienia. Jednakże nadal obecny był rozległy, bolesny krwiak. W celu przyspieszenia regresji krwiaka zastosowano laser biostymulujący półprzewodnikowy generujący wiązkę monochromatycznego światła (widzialna jasna czerwień) o długości fali światła 650 nm w dawce 2 J/cm. Ponadto równolegle stosowano rehabilitację ruchową.

Wyniki: Już po zastosowaniu pierwszej laseroterapii obserwowano zmniejszenie dolegliwości zgłaszanych przez pacjenta. Obwód uda zmniejszył się średnio o 1 cm na dobę. Nie obserwowano działań niepożądanych związanych z zastosowanym leczeniem.

Wnioski: Ten opis przypadku przedstawia skuteczne zastosowanie laseroterapii w leczeniu krwawienia do mięśni u pacjenta z trombastenią Glanzmanna. Laser biostymulujący jest bezpieczną metodą terapii i może być przydatny w przyspieszeniu i usprawnieniu leczenia.

Introduction: Glanzmann's thrombasthenia (GT) can be inherited in an autosomal recessive manner or acquired as an autoimmune disorder. Characteristically, there is increased mucosal bleeding menorrhagia, easy bruising, epistaxis, gingival bleeding, gastrointestinal bleeding, postpartum bleeding, increased bleeding post-operatively. First line treatment of severe bleeding are platelet transfusions or recombinant factor VIIa (rVIIa) in case of refractoriness to transfusion.

Aim: The primary objective of this study was to describe clinical effects observed in laser treatment in muscle bleeding in patient with GT.

Material and methods: A 13-year-old male with GT was admitted to the hospital due to an increasing bleeding to the right thigh caused by a fall from a bicycle. On physical examination, a haematoma was detected and located on the right thigh with the difference in the circuit between the lower limbs of 15 cm. The thigh was painful, extensive bruise was noticeable. Platelet transfusions was ineffective so rVIIa was successfully used to stop bleeding. Nonetheless the extensive, painful haematoma was still observed. Methods: The biostimulation with semiconductor laser generating a beam of monochromatic light (visible bright red) with the wavelength of 650 nm and dose of 2J/cm was used to accelerate the regression of hematoma. Furthermore rehabilitation exercises were conducted in parallel.

Results: The reduction of hematoma and remission of patient complaints was observed already after the first dose. The average circumference reduction was 1cm per day. No adverse effects were observed.

Conclusion: This case report describes the successful use of laser therapy in the treatment of muscle haematoma in GT. The laser biostimulation is safe and can help to accelerate treatment and improve patient management.

P18. OCENA TROMBOELASTOMETRYCZNYCH WŁAŚCIWOŚCI SKRZEPU ORAZ MAKSYMALNEGO STĘŻENIA I POTENCJAŁU GENEROWANEJ TROMBINY U POLSKICH PACJENTÓW Z RZADKO WYSTĘPUJĄCYMI WRODZONYMI NIEDOBORAMI CZYNNIKÓW KRZEPNIĘCIA KRWI – ANALIZA WSTĘPNA

dr n. med. Edyta Odnoczek, dr n. med. Beata Baran, lek. Adela Gwozdowska, dr n. med. Ewa Stefańska-Windyga, dr n. med. Anna Sikorska, lek. Anna Buczman, dr n. med. Magdalena Górka-Kosicka, dr n. med. Bernadetta Ceglarek, dr n. med. Robert Wasilewski, lek. Sławomir Jurek, prof. Jerzy Windyga

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Do grupy rzadko występujących skaz krwotocznych zalicza się niedobory pojedynczych osoczowych czynników (F) krzepnięcia oraz niedobory złożone. Z uwagi na bardzo heterogenny obraz kliniczny choroby w tej grupie pacjentów, u których stopień niedoboru czynnika krzepnięcia w osoczu rzadko koresponduje z nasileniem skazy krwotocznej, poszukuje się innych testów laboratoryjnych umożliwiających ocenę stopnia ryzyka wystąpienia krwawień. Zalicza się do nich badanie tromboelastometryczne (TEM) oraz badanie generacji trombiny (TGA).

Cel: Ocena tromboelastometrycznych właściwości skrzepu, maksymalnego stężenia i tempa wytwarzanej trombiny oraz określenie podłoża molekularnego rzadko występujących skaz krwotocznych w Polsce.

Materiał i metody: TEM wykonywano w krwi pełnej cytrynianowej z użyciem testów In-TEM, Ex-TEM, Fib-TEM, Ap-TEM i Rotemu delta. Analizowano 5 parametrów krzywej: CT, CFT, MCF, α , ML, porównując je do wartości referencyjnych producenta. Generację trombiny ubogopłytkowego osocza cytrynianowego badano z użyciem testu RC Low i Ceveronu alpha. Analizowano 4 parametry: Lag Phase, Peak Thrombin i Velocity Index oraz AUC, i porównywano je do oznaczeń przeprowadzonych w grupie 41 zdrowych dawców. Zaplanowano poszukiwanie mutacji sprawczej w genie kodującym niedoborowy cz. krzepnięcia metodą sekwencjonowania (ABI3130XL).

Wyniki: Do chwili obecnej do badania włączono 60 pacjentów (K – 39, M – 21) z 59 rodzin w wieku 8–75 lat (Me = 36). Niedobór FI reprezentowało 16 osób (27%), FV – 8 (13%), FVII – 11 (18%), FX – 4 (7%), FXI – 11 (18%), FXIII – 7 (12%), FV/FVIII – 2 (3%), FVII/FX – 1 (2%). W badanej grupie CT w In-TEM mieścił się w zakresie 157–1459 s (Me = 229, w.ref. 100–240), CFT – 52–267 s (Me = 92, w.ref. 30–110), MCF – 7–73 mm (Me = 60, w.ref. 50–72), α – 52–79° (Me = 3, w.ref. 70–83), ML – 0–100% (Me = 15, w.ref. < 15). W Ex-TEM CT wynosił 56–954 s (Me = 92, w.ref. 38–79), CFT –

50–584 s (Me = 89, w.ref. 34–159), MCF – 5–82 mm (Me = 62, w.ref. 50–72), α – 25–80° (Me = 72, w.ref. 63–83), ML – 0–100% (Me = 17, w.ref. < 15). W Fib-TEM MCF wynosił 3–23 mm (Me = 14, w.ref. 50–72), α – 25–72° (Me = 80, w.ref. 63–83), ML – 0–45% (Me = 0, w.ref. 15). W Ap-TEM CT wynosił 35–1416 s (Me = 84), CFT – 53–4986 s (Me = 90), MCF – 6–72 mm (Me = 63), α – 13–80° (Me = 72), ML – 0–100% (Me = 14). W TGA Lag Phase zawierał się 3,5–23,6 min (Me = 5,7; w.ref. 2,8–6,8), Peak Thrombin – 25,7–236,8 nM (Me = 122,5; w.ref. 59–227,5), Velocity Index – 1,5–59,8 nM/min (Me = 18,6; w.ref. 7,8–47,3), AUC – 381,3–2331,4 nM (Me = 1746,9; w.ref. 1183,7–2516,4).

Wnioski: Pogłębiona analiza uzyskanych danych być może przyczyni się do rozwoju diagnostyki i leczenia rzadkich skaz krwotocznych.

TRANSFUZJOLOGIA 4 – BEZPIECZEŃSTWO KRWI I JEJ SKŁADNIKÓW

PRZEWODNICZĄCY: M. YAZER (PITTSBURGH, USA), P. GRABARCZYK (WARSZAWA), R. POGLÓD (WARSZAWA)

Doniesienia ustne

HIPERENDEMICZNOŚĆ ZAKAŻEN WIRUSEM ZAPALENIA WĄTROBY TYPU E (HEV) NA TERENIE POLSKI NA PODSTAWIE WYNIKÓW BADAŃ MARKERÓW MOLEKULARNYCH I SEROLOGICZNYCH U DAWCÓW KRWI

Ewa Sulkowska¹, Dorota Kubicka-Russel¹, Grzegorz Liszewski¹, Ewa Noceń¹, Anna Chrzanowska¹, Aneta Kopacz¹, Sally Baylis², Victor Corman³, Jolanta Antoniewicz-Papis¹, Magdalena Łętowska¹, Piotr Grabarczyk¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Paul-Ehrlich-Institut, Langen, Niemcy

³University of Bonn Medical Centre, Bonn, Niemcy

Wstęp: Genotyp 1 i 2 wirusa zapalenia wątroby typu E (HEV) są przenoszone między ludźmi, szczególnie w krajach, gdzie panują niewystarczające warunki sanitarne i higieniczne. Do zakażeń genotypami 3 i 4 dochodzi głównie w wyniku spożycia mięsa zwierząt hodowlanych (głównie wieprzowiny) i dziczyzny (mięsa dzików). Zakażenia genotypem 1 zazwyczaj przebiegają objawowo i ulegają samoograniczeniu. Większość zakażeń genotypem 3 ma charakter bezobjawowy lub skąpoobjawowy, jednak u części osób z obniżoną odpornością – np. chorych na białaczkę, zakażonych HIV,

po przeszczepach narządów i tkanek – może przechodzić w postać przewlekłą, czemu towarzyszy progresja choroby wątroby (m.in. przewlekłe zapalenie wątroby, marskość wątroby, piorunujące zapalenie wątroby).

Cel: Celem badania była ocena częstości markerów zakażenia HEV u polskich krwiodawców.

Materiał i metody: Próbkę krwi pobrano w okresie luty–wrzesień 2015 r. od 4409 pierwszorazowych i 1081 wielokrotnych dawców w 22 Centrach Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (CKiK). RNA HEV badano indywidualnie metodą TMA (Procleix HEV Assay, Grifols). 3079 dawców pierwszorazowych przebadano w kierunku anty-HEV testem Wantai HEV IgG ELISA i Wantai HEV IgM ELISA (Beijing Wantai Biological). Próbkę powtórnie reaktywną w badaniu RNA HEV badano testem PCR Real Star® HEV RT-PCR Kit 1.0 (Altona Diagnostics). Wyniki dodatnie anty-HEV klasy IgM potwierdzono testem Western blot (WB) recomLine HEV IgG/IgM (Mikrogen, Diagnostik).

Wyniki: Zidentyfikowano trzy próbki wstępnie RNA HEV-reaktywne (1/1830), z czego dwie (1/2745) były powtórnie reaktywne i dodatkowo potwierdzone w RT-PCR. W jednym przypadku zsekwencjonowano fragment genomu wirusa, identyfikując podtyp 3i. Anty-HEV IgG wykryto u 43,52% dawców pierwszorazowych (1340/3079), u 39 dawców wykryto anty-HEV IgM (1,2%). U siedmiu dawców IgM (0,2%) były jedynym markerem zakażenia. 26 z 37 (70,2%) donacji IgM dodatnich zostało potwierdzonych w WB. Częstość IgG wahała się między regionami od 30% na Podlasiu do 65% w Wielkopolsce i rosła wraz z wiekiem od 25% u najmłodszych (18–27 lat) do ponad 60% u starszych dawców (47–58 lat). Zarówno IgG, jak i IgM wykrywano częściej u mężczyzn niż u kobiet (odpowiednio 47,8% vs 39% oraz 1,0% vs 0,2%, $p < 0,05$).

Wnioski: Wyniki wskazują na wysoką endemiczność zakażeń HEV w Polsce. Istnieje pilna potrzeba oceny znaczenia klinicznego HEV w naszym kraju oraz rozważenia zwiększenia dostępności diagnostyki HEV i wprowadzenia profilaktyki przenoszenia zakażeń przez transfuzje oraz transplantację.

czu przy użyciu systemu Theraflex MB Plasma, a w kolejnych latach przy użyciu systemu Mirasol PRT. Obecnie w Polsce w 11 z 23 CKiK korzysta się z 12 systemów Theraflex MB Plasma oraz 28 systemów Mirasol PRT.

Cel: Ocena stopnia wykorzystania systemów Theraflex MB Plasma i Mirasol PRT w CKiK w latach 2012–2015 oraz zastosowania inaktywowanego osocza w praktyce klinicznej.

Materiał i metody: Opracowano wzór ankiety, w której zawarto informacje dotyczące metody inaktywacji, liczby otrzymanych jednostek osocza świeżo mrożonego (FFP) w danym roku, liczby jednostek FFP poddanych procesowi inaktywacji. Ocenę stopnia wykorzystania inaktywowanych jednostek FFP przeprowadzono na podstawie danych statystycznych zawartych w przesłanych ankietach oraz w publikacjach „Journal of Transfusion Medicine” dotyczących działalności CKiK w Polsce w latach 2012–2015.

Wyniki: Odsetek inaktywowanego FFP wynosił średnio: 3,95% w 2012 r., 3,60% w 2013 r., 1,35% w 2014 r. i 3,65% w 2015 r. Odsetek inaktywowanego osocza w poszczególnych CKiK wynosił od 0,02% do 62,32% w 2012 r.; od 0,02% do 47,25% w 2013 r.; od 0,05% do 24,19% w 2014 r.; od 0,05% do 10,23% w 2015 r. Do użytku klinicznego wydano 4,73% w 2012 r.; 7,22% w 2013 r.; 8,74% w 2014 r.; 9,47% w 2015 r. FFP poddanego procesowi inaktywacji czynników chorobotwórczych.

Wnioski: Pomimo wzrostu odsetka inaktywowanego FFP przeznaczonego do celów klinicznych w latach 2012–2015 odsetek inaktywowanego FFP kształtował się na tym samym poziomie (wyjątek 2014 r.). Dlatego nadal niezbędne jest prowadzenie szkoleń personelu medycznego bezpośrednio zaangażowanego w przetwarzanie bardziej bezpiecznych składników krwi.

Praca dofinansowana ze środków Ministra Zdrowia na zadania Instytutu, o których mowa w ustawie o publicznej służbie krwi.

INAKTYWACJA CZYNNIKÓW CHOROBOTWÓRCZYCH W OSOCZU W CENTRACH KRWIODAWSTWA I KRWIOLECZNICTWA W LATACH 2012–2015

**dr Jolanta Kubis, dr Elżbieta Lachert,
dr Jolanta Antoniewicz-Papis, dr Aleksandra Rosiek,
mgr Agata Mikołowska, prof. Magdalena Łętowska**

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: W Polsce już w 2008 r. w niektórych centrach krwiodawstwa i krwiolecznictwa (CKiK) zaczęto wdrażać metodę inaktywacji czynników chorobotwórczych w oso-

PRZEGLĄD SYSTEMU JAKOŚCI NARZĘDZIEM DOSKONALENIA PUBLICZNEJ SŁUŻBY KRWI

**mgr Ewa Bojarska, mgr Grażyna Stasiaczek,
dr Małgorzata Szymczyk-Nużka**

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa im. prof. dr hab. Tadeusza Dorobisza we Wrocławiu

Wstęp: Na wzrost bezpieczeństwa krwi i jej składników wpływa skuteczny system zapewnienia jakości, którego zadaniem jest rozpoznawanie i zmniejszenie liczby błędów, zapewnienie wiarygodności testów, kontroli procesu produkcji, stosowanego sprzętu, automatyzacji badań, wsparcia systemów teleinformatycznych oraz wdrażanie skutecznych działań korygujących.

Cel: Celem pracy była ocena wpływu narzędzi systemu zapewnienia jakości na ograniczenie występowania błędów podczas pobierania, preparatyki, wydawania i przechowywania krwi i jej składników, a przez to minimalizacja liczby zniszczeń składników krwi i wzrost bezpieczeństwa przetoczeń.

Materiał i metody: Dokonano przeglądu systemu jakości w Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK) w 2016 r. w zestawieniu z poprzednimi latami. Do przeprowadzenia oceny wykorzystano narzędzia systemu jakości, takie jak analiza audytów wewnętrznych, stwierdzonych niezgodności oraz przeprowadzonych szkoleń wewnętrznych.

Wyniki: 1. Audyty wewnętrzne przeprowadzono we wszystkich obszarach działania RCKiK. Porównano liczby audytów w latach 2013–2016 i stwierdzono, że z roku na rok wzrasta liczba obszarów objętych kontrolą. W wyniku podjętych działań naprawczych w roku 2016 odnotowano 2-krotny spadek liczby niezgodności ważnych w stosunku do roku poprzedniego. Niezgodności ważne stanowiły niespełna 20% wszystkich niezgodności, co świadczy o wyeliminowaniu większych zagrożeń. 2. W 2016 r. zarejestrowano łącznie 468 niezgodności. Stwierdzono, że ponad 1/3 spowodowana była błędami ludzkimi. 30% odchyień to awarie urządzeń. 16% niezgodności stanowiły powody serologiczne, w tym dodatni wynik BTA czy obecność niezidentyfikowanych przeciwciał. Inne przyczyny stanowiły 10% odchyień i dotyczyły np. zabiegów u dawców ujawnionych po oddaniu krwi, wzrostu temperatury w mroźni spowodowanym przeładunkiem osocza. 3. W 2016 r. przeprowadzono łącznie 216 szkoleń wewnętrznych. 122 szkolenia stanowiły szkolenia planowe, natomiast 94 szkolenia zrealizowane poza planem. Wśród szkoleń pozaplanowych prawie 40% stanowiły te, które zrealizowano w odpowiedzi na popełniane błędy ludzkie. Wzrost w liczbie szkoleń, będących efektem zaleceń poaudytowych, bezpośrednio wpływa na podniesienie skuteczności działań korygujących.

Wnioski: Przegląd systemu jakości umożliwia zidentyfikowanie słabych punktów organizacji, wyeliminowanie przyczyn niezgodności. Pozwala to na ciągłe doskonalenie systemu, a w konsekwencji ogranicza występowanie zdarzeń niepożądanych.

Plakaty

P1. OCENA OSOCZA POD WZGLĘDEM EPIDEMIOLOGICZNYM Z RCKiK W KATOWICACH DLA FABRYK FRAKCJONOWANIA ZGODNIE Z MIĘDZYNARODOWYM PROGRAMEM JAKOŚCI OSOCZA (IQPP)

dr n. med. Lidia Basta, mgr Ewa Rudowska, mgr Adrian Miara, dr n. med. Stanisław Dyląg, lek. Bożena Drybańska

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Katowicach

Wstęp: Osocze ludzkie jest przetwarzane i stosowane u ludzi w wielu terapiach. W celu poprawy jakości i bezpieczeństwa osocza powstało Stowarzyszenie Leczenia Białkami Osocza – *Plasma Protein Therapeutics Association* (PPTA). PPTA zarządza standardami i programem, który pomaga zapewnić jakość i bezpieczeństwo osocza – *Quality Standards of Excellence, Assurance and Leadership* (QSEAL). Ważne jest, aby osocze było zbierane od dawców o niskim ryzyku przeniesienia chorób zakaźnych. W tym celu opracowano Międzynarodowy Program Jakości Osocza (IQPP). IQPP zapewnia niezależną, zewnętrzną ocenę zgodności produkowanego osocza z zasadami światowego przemysłu farmaceutycznego. Celem PPTA i IQPP jest wydanie certyfikatu dla centrów pobierania osocza, który umożliwia sprzedaż osocza do fabryk frakcjonowania na całym świecie.

Cel: Ocena osocza pochodzącego od dawców pierwszorazowych i wielokrotnych pod względem epidemiologicznym zgodnie z Międzynarodowym Programem Jakości Osocza (IQPP).

Materiał i metody: Badaniami objęto wszystkich dawców, którzy oddali krew w latach 2010–2016. Zgodnie z wytycznymi Europejskiej Agencji Leków (EMA) dawców podzielono na dawców pierwszorazowych i dawców wielokrotnych. Według EMA dawca pierwszorazowy to dawca, który zgłosił się do centrum po raz pierwszy w danym roku i zostały u niego wykonane badania w kierunku markerów wirusowych z lub bez pobranej donacji. Dawca wielokrotny to dawca, który był testowany wcześniej. Korzystając z IQPP, określono limity ostrzegawcze dla potwierdzonych wyników badań w kierunku markerów wirusowych dla każdej grupy dawców i porównano je z wynikami uzyskanymi w populacji dawców w RCKiK.

Wyniki: Wśród dawców pierwszorazowych przekroczono granice limitu ostrzegawczego IQPP dla sumy wirusów HIV, HCV i HBV w każdym roku. W przypadku wirusów HCV i HBV limity były przekroczone każdego roku. W przypadku HIV limity były przekroczone w latach 2010, 2012, 2013 i 2015, nie przekroczone natomiast limitu w roku 2011, 2014 i 2016. Jeżeli chodzi

o dawców wielokrotnych, limity ostrzegawcze były przekroczone dla sumy zakażeń HIV, HCV, HBV w latach 2011, 2012, 2013 i 2014. Limit przekroczone także dla wirusa HIV w latach 2012, 2014 i 2015 oraz dla wirusa HCV w 2014 r.

Wnioski: 1. Osocze pobrane od dawców pierwszorazowych przekracza limity epidemiologiczne i nie spełnia standardów IQPP. 2. Osocze od dawców wielokrotnych spełnia standardy IQPP i nadaje się dla fabryk frakcjonowania.

P2. PROCEDURY „SPOJRZENIE WSTECZ” PRZEPROWADZONE PRZEZ RCKIK W KRAKOWIE W LATACH 2012–2016. WYNIKI BADAŃ PRZEPROWADZONYCH U ZIDENTYFIKOWANYCH W PROCEDURZE BIORCÓW SKŁADNIKÓW KRWI

mgr Małgorzata Szeląg, mgr Małgorzata Suliga, lek. Jolanta Raś, mgr Jolanta Kuśmierczyk

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Krakowie

Wstęp: Zgodnie z wymaganiami, jeżeli aktualne badanie wielokrotnego dawcy krwi lub jej składnika wykazało potwierdzoną obecność zakażenia wirusami HBV, HCV, HIV, Centrum Krwiodawstwa rozpoczyna procedurę „spojrzenie wstecz”. Postępowanie to polega na prześledzeniu losów wszystkich składników krwi wykonanych w ciągu 6 miesięcy wstecz od ostatniej donacji, której towarzyszyły ujemne wyniki wirusologicznych testów przeglądowych.

Cel: Analiza danych dotyczących przeprowadzonych procedur „spojrzenie wstecz” oraz wyników badań wykonanych u biorców składników krwi w latach 2012–2016.

Materiał i metody: Badania markerów HBV, HCV, HIV wykonano w próbkach krwi wielokrotnych dawców krwi lub jej składników w Dziale Czynniki Zakaźnych Przenoszonych przez Krew RCKiK. Badania wykonano technikami TMA, CMIA. Testy weryfikacyjne wykonano w IHiT. Po uzyskaniu potwierdzenia zakażenia wirusem przenoszonym przez krew przeprowadzono procedurę „spojrzenie wstecz”. Zawiadomiono klinicznych odbiorców składników krwi w celu potwierdzenia lub wykluczenia zakażenia u biorców. Odbiorców fabrycznych zawiadomiono po testach przeglądowych.

Wyniki i wnioski: Ilość wykrytych zakażeń u dawców wielokrotnych w latach 2012–2016: HBV – 10, HCV – 14, HIV – 9. Rodzaj składników krwi i liczba pojemników objętych procedurą: koncentrat krwinek czerwonych – 53, osocze świeżo mrożone – 46, zlewany koncentrat krwinek płytkowych – 11. Losy składników krwi: wydano do szpitali 66 pojemników ze składnikami krwi (przetoczono 65), wydano do frakcjonowania 14 pojem-

ników osocza, zniszczono w Centrum Krwiodawstwa 30 pojemników ze składnikami krwi objętymi procedurą. Wysłano 66 zawiadomień do podmiotów leczniczych. Otrzymano ze szpitali informacje o wynikach badań mających potwierdzić lub wykluczyć zakażenie dotyczące 21 pacjentów (32%). Wszystkie wyniki były ujemne. 36 (54%) pacjentów nie zbadano z powodu zgonu. Nie uzyskano wyników badań dotyczących 8 pacjentów (12%), na przykład z powodu braku kontaktu z pacjentem. Jeden koncentrat krwinek czerwonych został zniszczony w szpitalu – nie przetoczony. Nie stwierdzono przeniesienia zakażenia na biorcę w okresie okna diagnostycznego w przebadanych przypadkach.

P3. BADANIA SCREENINGOWE WYKRYWAJĄCE PARWOWIRUSA B19 I HAV U DAWCÓW KRWI W RCKIK W KATOWICACH

mgr Ewa Rudowska, dr Lidia Basta, mgr Łucja Maj, mgr Krzysztof Musioł, mgr Anna Kopoacz, mgr Anna Wierzelewska, dr Stanisław Dyląg, lek. Bożena Drybańska

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Katowicach

Wstęp: Białka osocza leczą rzadkie, przewlekłe, często genetyczne choroby i zaburzenia. Stosowanie leków osoczo pochodnych wymaga dużej staranności w ich wyprodukowaniu, aby zapobiec przeniesieniu czynników zakaźnych i eliminacji ryzyka zakażenia biorcy. Stosowane powszechnie metody inaktywacji wirusów nie eliminują wirusów bez otoczki lipidowej, takich jak parwovirus B19. Ryzyko przeniesienia parwovirusa B19 potwierdzają doniesienia dotyczące jego obecności w koncentraty czynników krzepnięcia. W latach 90. stwierdzono kontaminację koncentratów czynników krzepnięcia wirusem zapalenia wątroby – HAV. Aby zwiększyć bezpieczeństwo pacjentów, amerykańska Rada Medyczno-Naukowa Narodowej Fundacji Hemofilii zaleciła, by producenci czynników krzepnięcia wyeliminowali ludzkie albuminy z ich składu. W celu skutecznej eliminacji ryzyka B19 i HAV powstały testy wykrywające kwasy nukleinowe wirusów B19 i HAV. Osocze dawców krwi, które jest przeznaczone do frakcjonowania, poddane jest badaniu na obecność DNA B19 i RNA HAV. Donacje o niskich stężeniach DNAB19 nie są zakaźne dla biorców, neutralizują je przeciwciała o wysokiej awidności.

Cel: Eliminacja osocza od dawców zakażonych HAV i parwovirusem B19 w stężeniu powyżej ustalonego *cutoff*.

Materiał i metody: W badaniu osocza na obecność RNA HAV i DNA B19 stosuje się multitest cobas TaqScreen DPX firmy Roche. Test wykrywa DNA B19 ilościowo i RNAHAV jakościowo w procesie *real time* PCR.

Próbki były badane w pulach 96. Po otrzymaniu wyniku reaktywnego była zastosowana procedura dojścia do donacji reaktywnej. Badania wykonano tylko dla donacji przeznaczonych dla frakcjonatora. Celem badania była dyskwalifikacja donacji zakażonych wirusem HAV i parwowirusem B19 o stężeniu powyżej *cutoff*. Przyjęto wartości *cutoff*: pojedyncza donacja – stężenie $\geq 10^5$ IU/ml, gdy wynik pochodzi z rozpułowania puli 96 dla puli 96 stężenie $\geq 10^3$ IU/ml, pojedyncza donacja $\geq 10^4$ IU/ml.

Wyniki: Przebadano donacje z lat: 2013 – 24 250 i wykryto 7 donacji zakażonych parwowirusem B19 o stężeniu powyżej *cutoff*; 2014 – 32 509 i wykryto 25 donacji zakażonych parwowirusem B19; 2015 – 36 796 i nie wykryto żadnej donacji zakażonej parwowirusem B19; 2016 – 25 126 i wykryto 1 donację zakażoną parwowirusem B19. W części badanych pul wykrywano DNA B19, ale stężenie dla puli było 10^3 IU/ml. W żadnej badanej donacji nie wykryto RNA HAV.

Wnioski: Wirus HAV nie jest wykrywany w pobranych donacjach. W niektórych latach wirus B19 wykrywany jest częściej niż w innych.

P4. ELIMINACJA ZAKAŻENIA WIRUSEM HBV U DAWCZYNI OBJĘTEJ PROGRAMEM SZCZEPIEŃ W KIERUNKU WZW TYPU B

mgr Karolina Pelc¹, mgr Iwona Różańska¹,
mgr Ewa Sulkowska², Alicja Bukowska³

¹Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Opolu

²Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

³Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Poznaniu

Wstęp: Jednym z istotnych wirusów powodujących wirusowe zapalenie wątroby jest wirus typu B (HBV). Wirus przenosi się przez krew, spermę i śluz pochwy. Należy do najbardziej zaraźliwych wśród poznanych ludzkich patogenów. W celu ograniczenia szerzenia się zakażenia wirusem typu B od 1996 r. programem szczepień przeciwko WZW typu B objęto wszystkie noworodki. Natomiast do krwiodawstwa oprócz badania antygenu HBs wprowadzono w 2005 r. badanie DNA HBV.

Cel: Przedstawienie przypadku zwalczenia infekcji u dawczyni objętej programem szczepień w kierunku WZW typu B w wieku niemowlęcym.

Materiał i metody: Badania wykonano z zastosowaniem serologicznych testów przeglądowych firmy Ortho, metodą biologii molekularnej firmy Roche oraz testów weryfikacyjnych w IHiT Warszawa.

Wyniki: W Pracowni Diagnostyki Czynn timer Zakażnych RCKiK w próbce indeksowej z donacji uzyskano ujemny wynik testu HBsAg. Badanie DNA HBV metodą biologii molekularnej (cobas TaqScreen MPX v.2) dało wynik reaktywny. W testach weryfikacyjnych uzyskano dodatni wynik DNA HBV, ujemny wynik anty-HBc (< 1 s/co)

i dodatni wynik przeciwciał anty-HBs 21,95 mIU/ml. W ankiecie epidemiologicznej dawczyni podała, że została poddana szczepieniom przeciwko WZW typu B w wieku niemowlęcym, otrzymując wszystkie dawki szczepionki w zalecanych odstępach czasu. W próbce pobranej w odstępie 17 dni od próbki pierwotnej nie wykryto DNA wirusa HBV. W kolejnej próbce (*follow up*) pobranej w odstępie 29 dni od próbki pierwotnej nie wykryto DNA wirusa HBV, nie wykryto antygenu HBs, antygenu HBe, uzyskano ujemny wynik przeciwciał anty-HBe i dodatnie wyniki przeciwciał anty-HBc total (2,05 s/co), anty-HBc IgM (1,33 s/co), anty-HBs (> 1000 mIU/ml). Analizując markery zakażenia HBV w próbce pierwotnej oraz kolejnych, zauważalny jest znaczny wzrost poziomu przeciwciał anty-HBs z jednoczesną eliminacją materiału genetycznego wirusa (DNA HBV) oraz pojawienie się przeciwciał anty-HBc. W żadnej z próbek nie wykryto antygenu HBs.

Wnioski: Obecność, nawet na bardzo niskim poziomie, poszczepiennych przeciwciał neutralizujących jest w stanie zapobiec rozwojowi zakażenia po wnikięciu wirusa do organizmu. Przedstawiony przypadek potwierdza skuteczność szczepienia przeciwko WZW typu B.

P5. SWOISTOŚĆ TESTÓW DO WYKRYWANIA WIRUSÓW PRZENOSZONYCH PRZEZ KREW STOSOWANYCH W RCKiK W BYDGOSZCZY

Kamilla Kledzik

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Bydgoszczy

Wstęp: Zgodnie z zaleceniami testy serologiczne stosowane do badań czynników wirusowych przenoszonych przez krew stosowane w krwiodawstwie muszą charakteryzować się wysoką czułością i swoistością.

Cel: Ocena swoistości testów/metod stosowanych w ostatnich latach (2007–2017) w RCKiK.

Materiał i metody: Oszacowano swoistość testów do wykrywania serologicznych markerów zakażeń wirusami HCV, HBV i HIV firm: ABBOT, ORTHO oraz BIO-RAD. Oceniano swoistość początkową dotyczącą 100% dawców badanych po raz pierwszy danym testem przez 8 tygodni od rozpoczęcia stosowania oraz swoistość dla mieszanej populacji dawców (badanych po raz pierwszy oraz następne) w ciągu kolejnych 6 miesięcy. Testy wprowadzono: ABBOTT: 13.03.2007 roku, ORTHO: 21.12.2009 roku, BIO-RAD: 28.09.2016 roku.

Wyniki: Wynik fałszywie reaktywny to wynik RR z ujemnymi lub nieokreślonymi wynikami testów weryfikacyjnych. Dla porównania badań w kierunku HCV, gdzie w 2007 roku nie weryfikowano dawców pierwszorazowych testem WB, podano dane dla pozostałych badań również bez weryfikacji WB. W początkowym

8-tygodniowym okresie badań swoistość w % wynosiła: testy firmy ABBOTT: HBV 100; HCV 99,747; HIV 99,977; testy firmy ORTHO: HBV 99,978; HCV 99,593; HIV 99,882; testy firmy BIO-RAD: HBV 99,787; HCV 99,663; HIV 99,893. Swoistość w kolejnym, 6-miesięcznym okresie: testy firmy ABBOTT: HBV 99,970; HCV 99,717; HIV 99,960, łącznie dla kompletu 3 badań: 99,651; testy firmy ORTHO: HBV 99,985; HCV 99,714; HIV 99,85, łącznie: 99,55; testy firmy BIO-RAD: HBV 99,97; HCV 99,954; HIV 99,973, łącznie: 99,898. Dane dotyczące swoistości przeliczono na liczbę donacji wymagających zniszczenia w RCKiK w ciągu roku przy założeniu poboru 70 000 donacji.

Wnioski: Wysoka swoistość testów stosowanych w krwiodawstwie jest poza wysoką czułością parametrem niezwykle ważnym w obliczu zmniejszającej się liczby dawców. Uzyskanie wyniku powtarzalnie reaktywnego powoduje czasowe odsunięcie dawcy na co najmniej 6 miesięcy. Wysoka swoistość pozwala na ograniczenie strat związanych z pobieraniem, preparatyką, badaniem, a następnie utylizacją składników krwi. Zastosowanie testów chemiluminescencyjnych jest dużo wygodniejsze, ponieważ umożliwia rozpoczęcie badań w dowolnej chwili, jednakże ważne są również przewidywane straty donacji. W analizowanym krótkim – 8-tygodniowym – okresie najwyższą swoistość wykazały testy firmy ABBOTT. Analiza wyników z 6 miesięcy wykazuje, że znacząco najlepszą prognozę długoterminową dają badania testami BIO-RAD.

P6. WYKRYWANIE ZAKAŻEŃ WIRUSEM ZAPALENIA WĄTROBY TYPU B U DAWCÓW KRWI W POLSCE W LATACH 2005–2015

mgr Aneta Kopacz¹, mgr Dorota Kubicka-Russel¹,
mgr Ewa Sulkowska¹, mgr Paulina Zwolińska¹,
mgr Grzegorz Liszewski¹, mgr Katarzyna Tkaczuk¹,
dr hab. n. med. Piotr Grabarczyk¹,
Polska Grupa ds. Badań Czynn timer Zakaźnych
u Dawców Krwi²

¹Institut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Centrach Krwiodawstwa i Krwiolecztwa

Wstęp: Analiza wykrywania antygenu HBs u dawców krwi w Polsce w latach 1994–2004 wskazała na jego obecność u 790/100 000 dawców pierwszorazowych oraz u 60/100 000 dawców wielokrotnych. Od 2005 r., w którym wprowadzono obowiązek badania DNA HBV w każdej donacji, nie przedstawiano kompleksowych danych wykrywania zakażeń HBV u dawców.

Cel: Epidemiologiczna analiza zakażeń HBV zidentyfikowanych podczas badań przeglądowych polskich krwiodawców w latach 2005–2015.

Materiał i metody: W analizowanym okresie przeglądowe badania HBsAg i DNA HBV przeprowadzono w 12 513 283 donacjach pochodzących od 6 408 819

dawców krwi. Za dodatnie (świadczące o zakażeniu) uznawano wyniki powtarzalnie reaktywne potwierdzone w badaniu NAT i/lub testem neutralizacji.

Wyniki: W latach 2005–2015 wykryto 10 714 zakażeń HBV: 10 519 serododatnich, tj. HBsAg(+) i 195 DNA HBV yield [HBsAg(-)/DNA HBV(+)], w tym 44 okienka serologiczne (WP) i 151 ukrytych zakażeń HBV (OBI). Skumulowana częstość (95% przedział ufności – CI) potwierdzonych zakażeń HBV w przeliczeniu na 100 000 dawców wynosiła 164,11 (CI: 160,99–167,30) dla HBsAg(+) i 3,04 (CI: 2,62–3,47) dla DNA HBV yield. Częstość zakażeń była większa u mężczyzn niż u kobiet (OR = 1,38; CI: 1,32–1,45; $p < 0,05$). Ta prawidłowość dotyczyła zarówno zakażeń serododatnich (OR = 1,36; CI: 1,29–1,43; $p < 0,05$), jak i seronegatywnych (OR = 3,84; CI: 2,30–6,40; $p < 0,05$). Obserwowano systematyczny spadek częstości zakażeń HBsAg(+) z 264,5 w 2005 r. do 53,1 w 2015 r. (/100 000 dawców) i fluktuację częstości zakażeń DNA HBV yield (od 0,83 do 6,62/100 000 dawców). Na początku analizowanego okresu najwyższą (449/100 000 dawców) częstość zakażeń HBsAg(+) rejestrowano w grupie wiekowej ≤ 20 lat, w kolejnych latach parametr ten ulegał obniżaniu, aż do 21/100 000 dawców w 2015 r. (2005 vs 2015: OR = 20,7; $p < 0,05$). W przypadku zakażeń ukrytych częstość ich wykrywania wzrastała wraz z wiekiem dawców. Występowało zróżnicowanie geograficzne częstości zakażeń HBV (/100 000 dawców): najczęściej identyfikowano je w Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecztwa w Łodzi (351) i Kaliszu (231), a najrzadziej w Lublinie (88) i Rzeszowie (52).

Wnioski: W latach 2005–2015 częstość wykrywanych zakażeń HBV seropozytywnych wynosiła 167, a seronegatywnych 3 (/100 000 dawców). Wobec systematycznej poprawy sytuacji epidemiologicznej i czułości badań przeglądowych stosowanych w krwiodawstwie w Polsce należy spodziewać się zmniejszenia ryzyka resztkowego przeniesienia zakażenia HBV z dawcy na biorcę.

P7. WYKRYWANIE ZAKAŻEŃ WIRUSEM ZAPALENIA WĄTROBY TYPU C (HCV) W POLSCE W TRAKCIE BADAŃ PRZEGLĄDOWYCH DAWCÓW KRWI W LATACH 2005–2015

Ewa Sulkowska¹, Dorota Kubicka-Russel¹,
Aneta Kopacz¹, Katarzyna Tkaczuk¹, Piotr Grabarczyk¹,
Polska Grupa ds. Badań Czynn timer Zakaźnych
u Dawców Krwi w Centrach Krwiodawstwa
i Krwiolecztwa²

¹Institut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Centra Krwiodawstwa i Krwiolecztwa

Wstęp: Markery zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV) są badane metodami serologicznymi

mi oraz technikami biologii molekularnej (NAT) w każdej donacji krwi.

Cel: Celem badania była analiza wykrywania zakażeń HCV w trakcie badań przeglądowych markerów zakażenia HCV u polskich krwiodawców w latach 2005–2015.

Materiał i metody: W analizowanym okresie w Centrach Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (CKiK) w badaniach przeglądowych przeciwciała anty-HCV oraz RNA HCV zbadano w 12 513 283 donacjach pobranych od 6 408 819 dawców (2 287 591 dawców pierwszorazowych, 4 121 228 dawców wielokrotnych). Badania NAT wykonywane były w pojedynczych donacjach metodą TMA (95% Limit of detection, LOD testów w analizowanym okresie wynosił ok. 3 IU/ml) lub metodą PCR w minipulach (MP) złożonych z 24 lub 6 donacji (95% LOD wahał się od 500 do 41 IU/ml). Wyniki powtarzalnie reaktywne potwierdzone w Western blot (WB) i/lub w NAT uznawane były za dodatnie.

Wyniki: Zakażenie HCV zidentyfikowano u 7126 dawców (0,1%): 7055 serododatnich (5605 anty-HCV+/RNA HCV+ i 1450 anty-HCV+/RNA HCV–/WB+) i 71 w okresie okienka serologicznego (WP). Częstość serododatnich zakażeń (95% przedział ufności – CI) na 100 000 dawców wynosiła 110,1 (CI: 107,5–112,6), zaś zakażeń WP 1,1 (CI: 0,9–1,4). Do 2008 r. częstość zakażeń (/100 000 dawców) wzrosła z 69,2 do 162, ryzyko względne OR wynosiło 2,33 (CI: 2,06–2,64), $p < 0,05$. Od 2009 r. odnotowano spadek częstości dodatnich wyników badań w kierunku HCV (do 49 w 2015 r., OR 2009 vs 2015 = 3,15 (CI: 2,76–3,58), $p < 0,05$). Częściej zakażenia potwierdzano u kobiet – 126,3 (CI: 120,8–131,8) niż u mężczyzn 107,4 (CI: 104,4–110,4), OR = 1,17 (CI: 1,1–1,2), $p < 0,05$. Częściej zakażenia potwierdzano u dawców pierwszorazowych 288,4 (CI: 281,4–295,3) niż u wielokrotnych 12,8 (CI: 11,7–13,9); OR = 22,5 (CI: 20,6–24,5), $p < 0,05$. Częstość zakażeń wahała się między regionami od 209 w Kielcach, 206,8 w Łodzi do 46,1 w Rzeszowie oraz 47,8 w Słupsku. W latach 2005–2011 najczęściej zakażenia wykrywano wśród dawców w wieku 18–20 lat (150/100 000 dawców).

Wnioski: Od 2010 r. obserwuje się korzystny trend w zakresie częstości dyskwalifikacji związanych z zakażeniem HCV, niemniej istnieje istotne zróżnicowanie geograficzne, które może się przekładać na różnice w ryzyku resztkowym zakażenia HCV przez transfuzję w Polsce.

P8. WYKRYWANIE ZAKAŻEŃ LUDZKIM WIRUSEM NIEDOBORU ODPORNOŚCI (HIV) U DAWCÓW KRWI W POLSCE W LATACH 2005–2015

mgr Dorota Kubicka-Russel¹, Aneta Kopacz¹,
Katarzyna Tkaczuk¹, Ewa Sulkowska¹,
Magdalena Rosińska², Piotr Grabarczyk¹,
I Polska Grupa ds. Badań Czynn timerów Zakaźnych
u Dawców Krwi w Centrach Krwiodawstwa
i Krwiolecznictwa³

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny

³CKiK

Wstęp: Analiza zakażeń u dawców krwi jest ważnym elementem czuwania nad bezpieczeństwem przetoczeń.

Cel: W związku z obserwowanym wzrostem liczby zakażeń HIV w Polsce celem badania było ustalenie częstości zakażeń HIV u dawców krwi w latach 2005–2015.

Materiał i metody: Badaniami przeglądowymi objęto 12 513 283 donacje od 6 408 819 dawców. Powtarzalnie reaktywne wyniki badań potwierdzano w NAT i Western blot (WB). Ankietę epidemiologiczną wypełniło 108 dawców (30%), u których potwierdzono zakażenie w latach 2008–2015, w tym 64% dawców wielokrotnych i 36% pierwszorazowych, 95% ankietowanych stanowili mężczyźni. Częstość zakażeń obliczano w odniesieniu do 100 000 dawców z 95% przedziałem ufności (CI).

Wyniki: Zidentyfikowano łącznie 449 zakażeń, w tym 434 seropozytywnych (96,6%) i 15 seronegatywnych (3,4%). Skumulowana częstość zakażeń wynosiła 7,0 (CI: 6,4–7,6) i była większa u dawców pierwszorazowych niż wielokrotnych (ryzyko względne – RR 1,3; 95% CI: 1,1–1,6; $p < 0,05$) oraz wśród mężczyzn niż kobiet (RR 3,7; 95% CI: 2,7–5,2; $p < 0,05$). Częstość zakażeń seropozytywnych wynosiła 6,77 (CI: 6,1–7,4) i wahała się od 4,7 (w 2007 r.) do 9,4 (w 2009 r.). Obserwowano trend rosnący. Częstość seropozytywnych zakażeń była wyższa u dawców pierwszorazowych (8,4; CI: 7,2–9,5) niż u wielokrotnych (5,9; CI: 5,2–6,6), a RR wynosiło 1,4 (95% CI: 1,2–1,7; $p < 0,05$). Najwyższą częstość odnotowano w grupach wiekowych 21–30 (9,31) i 31–40 lat (8,78), a najniższą < 20 (3) i > 60 lat (0). Najczęściej HIV identyfikowano w CKiK pd.-zach. części Polski – w Katowicach (11,9), Wrocławiu (11,4), Wałbrzychu (10,5) i Raciborzu (10,2), a najrzadziej we wschodniej części kraju – w Białymstoku (3,6) i Lublinie (3,5). Częstość zakażeń seronegatywnych wyniosła ogółem 0,23 (CI: 0,11–0,35) i była wyższa u dawców wielokrotnych 0,34 (CI: 0,16–0,52) niż pierwszorazowych 0,04 (CI: 0–0,13), a ryzyko względne RR wynosiło 7,7 (95% CI: 1–59; $p < 0,05$). Na podstawie ankiet epidemiologicznych stwierdzono, że dominującą prawdopodobną drogą przenoszenia zakażeń były kontakty seksualne (61%, $n = 66$),

w tym na kontakty homoseksualne wskazała analiza 61% ($n = 40$) ankiet.

Wnioski: Rosnący trend częstości zakażeń HIV u dawców krwi w Polsce świadczy o zwiększonej zapałalności HIV w grupie potencjalnych dawców, co przekłada się na zwiększone ryzyko przeniesienia infekcji. W związku z tym należy rozważyć intensyfikację edukacji dawców w zakresie ryzykownych zachowań sprzyjających przenoszeniu zakażeń oraz dokonać przeglądu kryteriów kwalifikacji dawców.

P9. EPIDEMIOLOGIA I PRZEBIEG ZAKAŻENIA PARVOWIRUSEM B19 U DAWCÓW KRWI W POLSCE W LATACH 2010–2017

Aleksandra Kalińska¹, Dorota Kubicka-Russel¹, Ewa Sulkowska¹, Piotr Grabarczyk¹, Polska Grupa ds. Badań Czynn timerów Zakaźnych u Dawców Krwi w Centrach Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa²

¹Institut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Centra Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa

Wstęp: Zakażenie TT-B19V (*transfusion transmitted -B19V*) niesie ryzyko wystąpienia powikłań klinicznych u chorych nieimmunokompetentnych, z nasiloną erytropoezą, seronegatywnych kobiet ciężarnych. Farmakopea Europejska dopuszcza stężenie DNA B19V $< 10^4$ IU/ml w puli osocza do produkcji immunoglobuliny anty-D. W Polsce dawca z wykrytym DNA B19V dyskwalifikowany jest do czasu całkowitego ograniczenia zakażenia.

Cel: Analiza występowania i przebiegu zakażenia B19V u dawców krwi w Polsce.

Materiał i metody: Częstość B19V analizowano u 848 572 dawców z lat 2013–2016, a przebieg zakażenia analizowano u 309 dawców, u których wykryto DNA B19V w badaniach przeglądowych w latach 2010–2017. Częstość zakażeń obliczano na 100 000 dawców z 95% przedziałem ufności (95% CI). Zakażenie monitorowano metodą real-time PCR wg Candotti D. 2004 i testem Parvovirus B19 R-gene (Biomerieux), anty-B19V badano metodą ELISA (Mikrogen/Euroimmun/Serion), 149 próbek zgenotypowano metodą wg Schalasta G. 2004.

Wyniki: Skumulowana częstość B19V wynosiła 33,2 (29,5–37,3) i była najwyższa w 2014 r. – 58,1 (49,1–68,7). Najwyższą częstość odnotowano w grupie wiekowej 31–40 lat – 50,1 (41,5–60,5), najniższą w grupie 51–60 lat – 11,0 (4,7–25,8); $p < 0,05$. Częstość zakażeń u kobiet i mężczyzn wyniosła odpowiednio 32,5 i 34,6 (NS). U 149 dawców wykryto genotyp 1. U 252/309 dawców wykryto DNA B19V w ostatniej badanej próbce: u 35 dawców do 1 roku (średnia DNA-emia – $3,6 \times 10^4$ IU/ml), u 97 do 2 lat ($5,8 \times 10^2$ IU/ml), u 90 do 3 lat ($1,7 \times 10^2$ IU/ml), u 24 do 4 lat ($2,9 \times 10^2$ IU/ml), u 6 do 5 lat ($2,4 \times 10^1$ IU/ml),

a DNA-emia w próbkach indeksowych wyniosła $4,0 \times 10^2$ – $2,4 \times 10^{12}$ IU/ml. U 70/252 dawców badano anty-B19V. U wszystkich w ostatniej próbce wykryto IgG (u 38 IgG over), u 7 IgM (nawet do 37 m-cy). DNA-emie ograniczyło 57/309 dawców, w tym 22 w ciągu 2–3 lat, 14 – 1–2 lat, 11 – 3–4 lat i 7 – 4–7 lat. Trzech dawców wyeliminowało zakażenie w ciągu pierwszego roku. DNA-emia w próbkach indeksowych wyniosła $5,0 \times 10^2$ – $3,1 \times 10^{11}$ IU/ml. U 34/57 dawców badano anty-B19V. U 9/34 dawców IgM wykrywano 3–38 m-cy. U wszystkich dawców w próbce DNA B19V(–) wykryto IgG (u 6 IgG over), a IgM u 1 dawcy. U 8/34 dawców obserwowano serokonwersję.

Wnioski: Nasilenie częstości zakażeń obserwowano w 2014 r. Wykazano przewlekłe zakażenie genotypem 1 trwające przynajmniej 5 lat. U niektórych dawców IgM utrzymywały się nawet przez 38 miesięcy. Konieczna jest weryfikacja kryteriów kwalifikacji dawców zakażonych B19V, biorąc pod uwagę przebieg infekcji oraz aktualne dane dotyczące zakaźności.

P10. PRZYCZYNY INICJOWANIA PROCEDURY ŚLEDZENIA LOSÓW KRWI (TRACEABILITY) W LATACH 2009–2016 NA TERENIE OBJĘTYM DZIAŁALNOŚCIĄ RCKiK OPOLE

mgr Aleksandra Malarska, dr Iwona Rajca-Biernacka, dr Hanna Duliban, mgr Anna Suszek, mgr Agnieszka Ramus

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Opolu

Wstęp: Przeprowadzenie procedury śledzenia losów krwi (*traceability*) to jedno z zadań czuwania nad bezpieczeństwem krwi i jej składników. Procedura inicjowana jest w sytuacji uzyskania reaktywnego wyniku badania dawcy wielokrotnego markerów wirusów HBV, HCV i HIV (*look back*), w wyniku rozpoznania u biorcy krwi lub jej składników zakażenia biologicznymi czynnikami chorobotwórczymi przenoszonymi drogą krwi oraz uzyskaniem przez publiczną służbę krwi informacji o stanie zdrowia dawcy uzyskanymi po donacji.

Cel: Celem pracy była analiza przyczyn inicjujących procedurę śledzenia losów krwi w latach 2009–2016 na terenie objętym działalnością RCKiK Opole.

Materiał i metody: Analizie retrospektywnej poddano 267 procedur śledzenia losów krwi zainicjowanych przez RCKiK Opole w latach 2009–2016 wraz z analizą ich przyczyn.

Wyniki: Procedurę *traceability* inicjowano głównie po uzyskaniu reaktywnych wyników badań markerów wirusologicznych u dawcy wielokrotnego: 256 przypadków, w tym HCV – 154 przypadki, HIV – 79, HBV – 23, co stanowi 95,9% wszystkich zainicjowanych procedur. Ponadto czynnikami inicjującymi ww. procedurę były

zgłoszenia zachorowania przez dawców lub ich rodzinę (2 przypadki) oraz zgłoszenia przez inne organizacje: 1 przypadek – ZUS, 7 – pozostałe CKiK. Podmioty lecznicze nie zgłosiły przypadków zakażenia biorcy. Reaktywne wyniki badań wirusologicznych uzyskały następnie dodatnie wyniki badań potwierdzających w 23 przypadkach (10,7% zainicjowanych procedur). W tych sytuacjach o wszczęciu procedury zostały powiadomiane podmioty lecznicze. Nastąpiła identyfikacja biorców, a wyniki przeprowadzonych badań wykluczyły zakażenie biorców badanymi wirusami. Liczba procedur skutkujących koniecznością powiadomienia frakcjonatorów osocza wynosiła 111, w tym 12 zakończonych dodatnim wynikiem badań wirusologicznych.

Wnioski: 1. Zarówno CKiK, jak i inne organizacje zewnętrzne, np. podmioty lecznicze, stosują się do obowiązujących przepisów dotyczących czuwania nad bezpieczeństwem krwi w zakresie procedury śledzenia losów krwi. 2. Procedury zakończone dodatnim wynikiem badań kwalifikacyjnych stanowią 10,7% wszystkich zainicjowanych z tej przyczyny postępowań i skutkują potrzebą powiadomienia podmiotu leczniczego. 3. W latach 2009–2016 na terenie objętym działalnością RCKiK Opole nie zanotowano potwierdzonego zakażenia biorcy składnikiem krwi. 4. Główną przyczyną inicjowania procedury śledzenia losów krwi są reaktywne wyniki badań kwalifikujących dawcę (95,9%).

wane jako nadmiernie zhemizowane (zgłoszenia do Działu Zapewnienia Jakości z Działu Preparatyki, Działu Ekspedycji, negatywna ocena wizualna dokonana przez personel DZI podczas zwalniania składników krwi do użycia). Następnie obliczono stopień hemolizy wszystkich składników i wyliczono średni stopień hemolizy składników, które ostatecznie zostały zakwalifikowane do zwolnienia do leczenia oraz zniszczone z powodu nadmiernej hemolizy.

Wyniki i wnioski: Spośród 26 zgłoszonych składników jedynie w 5 przypadkach (19,23% przebadanych) stopień hemolizy przekraczał dopuszczalne normy ($> 0,8\%$) i wynosił średnio 1,67% – wszystkie składniki zniszczono. W jednym przypadku stopień hemolizy wynosił 0,75% w 6. dniu przechowywania, w związku z czym składnik został również zniszczony. W pozostałych 20 jednostkach KKCz (76,92%) stopień hemolizy nie przekraczał 0,8% mimo negatywnej oceny wizualnej, wynosił średnio 0,40 (najniższa wartość 0,18; najwyższa wartość 0,68), w związku z czym składniki zostały zwolnione do użycia. Ocena wizualna nie jest doskonałym narzędziem służącym do identyfikacji hemolizy w KKCz, a odrzucanie jednostek krwi ze względu na jej negatywny wynik może skutkować nieuzasadnionym wzrostem zniszczeń KKCz. Każdorazowe podejrzenie nadmiernej hemolizy w KKCz powinno pociągać za sobą obiektywne badania nadsączone w kierunku zawartości wolnej hemoglobiny, których wyniki powinny być podstawą do zwolnienia lub zniszczenia jednostki.

P11. OCENA WIZUALNA JAKO SUBIEKTYWNE NARZĘDZIE SŁUŻĄCE DO IDENTYFIKACJI HEMOLIZY W KONCENTRATACH KRWINEK CZERWONYCH

mgr Alicja Szulakowska

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa
im. prof. dr. hab. Tadeusza Dorobisz wrocławiu

Wstęp: Ocena wizualna jest jednym z elementów kwalifikacji wszystkich składników krwi. W ocenie wizualnej Koncentratów Krwinek Czerwonych (KKCz) szczególnie istotne jest oszacowanie prawidłowości zabarwienia każdej jednostki w celu wyeliminowania jednostek zhemizowanych. Ten sposób badania jakościowego składnika ze względu na swój subiektywny charakter jest obciążony błędem i może skutkować odrzuceniem jednostek o dopuszczalnym stopniu hemolizy.

Cel: Ewaluacja przydatności oceny wizualnej jako narzędzia służącego do identyfikacji hemolizy w KKCz w Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa we Wrocławiu.

Materiał i metody: Badaniom zawartości hemoglobiny przy użyciu hemoglobinometru Hemo Cue Low Hb poddano nadsączone 26 KKCz, które na różnych etapach otrzymywania i przechowywania zostały zakwalifiko-

P12. WYKORZYSTANIE CMV IGM-NEGATYWNYCH SKŁADNIKÓW KRWI W LATACH 2014–2016 PRZEZ OŚRODKI HEMATOONKOLOGICZNE WOJEWÓDZTWA ŚLĄSKIEGO

mgr Adrian Miara, dr Lidia Basta, mgr Ewa Rudowska, dr Stanisław Dyląg, lek. Bożena Drybańska

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa
w Katowicach

Wstęp: Transfuzje krwi i jej składników niosą ze sobą ryzyko przeniesienia ludzkiego wirusa cytomegalii (CMV), który może powodować poważne powikłania. Wysoką zachorowalność i śmiertelność wywołaną zakażeniem CMV obserwuje się u pacjentów z obniżoną odpornością. Transfuzja może być źródłem zakażenia szczególnie u wcześniaków, biorców krwi po przeszczepach oraz u pacjentów onkologicznych. W celu zredukowania transmisji CMV należy stosować składniki krwi pochodzące od dawców CMV-negatywnych – bez markerów świeżej infekcji.

Cel: Celem pracy jest ocena wykorzystania anty-CMV IgM-negatywnych składników krwi przez Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny im. Andrzeja Mielęckiego

SUM (SPSK) w Katowicach oraz Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie (CO) w Gliwicach w latach 2014–2016.

Materiał i metody: Analizą objęto zamówienia na składniki krwi anty-CMV IgM-negatywnych w latach 2014–2016.

Wyniki: W latach 2014–2016 wykorzystano 10 061 składników krwi anty-CMV IgM-negatywnych. 6798 jednostek trafiło do SPSK w Katowicach, a 3263 do CO w Gliwicach. SPSK wykorzystał 3232 jednostki KKCz i 3566 jednostki UKKP, natomiast CO – 1661 jednostek KKCz i 1602 jednostki UKKP. W 2015 r. zużycie KKCz i UKKP wzrosło o 26% w stosunku do 2014 r., natomiast w 2016 r. spadło o 3,5%. W 2014 r. największe zużycie składników krwi miało miejsce w czerwcu, w 2015 r. w grudniu, a w 2016 r. w październiku. W badanym okresie czasu miesięczne zużycie składników krwi było wyższe w SPSK SUM w Katowicach, aż do listopada 2016 r. – tendencja ta utrzymała się także w grudniu 2016 r.

Wnioski: 1. W latach 2014–2016 wykorzystano 10 061 składników krwi anty-CMV IgM-negatywnych. 2. Ponad połowę (51%) wszystkich użytych składników krwi w analizowanych latach stanowił UKKP. 3. Największe zużycie anty-CMV IgM-negatywnych składników krwi nastąpiło w 2015 r. 4. Wykorzystanie anty-CMV IgM-negatywnych składników krwi w CO w Gliwicach wrosło w analizowanych latach odpowiednio o 248 i 376 jednostek. 5. W latach 2014–2016 w SPSK SUM w Katowicach wykorzystano 6798 anty-CMV IgM-negatywne składniki krwi, w tym 3232 jednostki KKCz i 3566 jednostek UKKP, co stanowiło 67% wszystkich zamówionych składników krwi.

P13. POSZCZEPIENNE WYKRYCIA ANTYGENU POWIERZCHNIOWEGO WIRUSA ZAPALENIA WĄTROBY TYPU B (HBsAg) WŚRÓD KRWIODAWCÓW RCKiK W LATACH 2006–2015

mgr Alicja Bukowska, mgr Katarzyna Gałczyńska,
mgr Krzysztof Piersiala, lek. med. Krzysztof Olbromski,
lek. med. Hanna Skalisz

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa
w Poznaniu

Wstęp: Wirus zapalenia wątroby typu B jest jednym z czynników zakaźnych przenoszonych przez krew, dlatego też w polskim krwiodawstwie istnieje obowiązek wykonywania badań w kierunku tego markera w każdej donacji. Diagnostyka przebiega dwuetapowo, etap serologiczny polega na badaniu obecności antygeny powierzchniowego HBV (HBsAg), natomiast w etapie molekularnym wykrywany jest materiał genetyczny wirusa DNA-HBV. W przypadku reaktywnego wyniku

testu HBsAg należy potwierdzić jego swoistość testem neutralizacji. Marker ten wykrywany jest nie tylko u osoby zakażonej HBV, lecz może być także obecny w przypadku niedawnego szczepienia przeciwko WZW B, gdyż HBsAg jest składnikiem szczepionki. Okres obecności antygeny HBsAg we krwi osób szczepionych nie został dokładnie określony. W ostatnich latach obserwujemy spadek liczby zakażeń wśród dawców, co wynika z wprowadzenia szczepień przeciwko WZW B w latach 90.

Cel: Celem pracy było określenie, jaki odsetek wykryć HBsAg u krwiodawców RCKiK w latach 2006–2015 stanowiły wykrycia poszczepienne.

Materiał i metody: Badania w kierunku HBsAg w latach 2006–2015 wykonywano testami firm OrthoClinical Diagnostics, Abbott i Biomerieux o wysokiej czułości i swoistości. Każdy wynik powtarzalnie reaktywny weryfikowano testem neutralizacji.

Wyniki i wnioski: W latach 2006–2015 zareportowano 555 zakażeń HBV u dawców RCKiK, 8 z nich okazało się przypadkami poszczepiennego wykrycia HBsAg. Stanowi to 1,44% wszystkich wykryć tego markera. Rok: 2006 – 84 wykrycia HBsAg, 2007 – 84 wykrycia HBsAg, w tym 1 poszczepienne, 2008 – 81 wykryć HBsAg, 2009 – 67 wykryć HBsAg, w tym 2 poszczepienne, 2010 – 73 wykrycia HBsAg, w tym 1 poszczepienne, 2011 – 46 wykryć HBsAg, 2012 – 43 wykrycia HBsAg, 2013 – 27 wykryć HBsAg, w tym 1 poszczepienne, 2014 – 27 wykryć HBsAg, w tym 2 poszczepienne, 2015 – 23 wykrycia HBsAg, w tym 1 poszczepienne. Wykrycia poszczepienne utrzymują się na porównywalnym poziomie w kolejnych latach. Z roku na rok obserwuje się spadek wykryć zakażenia HBV u krwiodawców. W latach 2006–2015 wykrycia poszczepienne HBsAg stanowiły niewielki procent wszystkich wykryć tego markera. Należy jednak zawsze mieć na uwadze, że nisko powtarzalnie reaktywne wyniki oznaczania HBsAg, potwierdzone testem neutralizacji, mogą być spowodowane niedawnym szczepieniem dawcy przeciwko WZW B. Sytuację taką należy przeanalizować, aby nie pozbawiać dawcy niezakażonego, a zaszczepionego przeciwko HBV możliwości oddawania krwi.

ZESPOŁY MIELODYSPLASTYCZNE**PRZEWODNICZĄCY:**

J. DWILEWICZ-TROJACZEK
(WARSZAWA), **L. GIL** (POZNAŃ)

Doniesienia ustne

**PROGNOSTIC RELEVANCE OF WHO 2016
CHRONIC MYELOMONOCYTIC LEUKEMIA
(CMML) CATEGORIES – POLISH MDS
REGISTRY OF POLISH ADULT LEUKEMIA
GROUP RESULTS**

**dr Krzysztof Mądry¹, dr Anna Waszczuk-Gajda¹,
dr Joanna Drozd-Sokołowska¹, lek. Karol Lis¹,
dr Anna Sikorska², dr Paweł Szwedek³,
dr hab Katarzyna Kapelko-Słowik⁴,
dr Magdalena Dutka⁵, dr Anna Jachalska⁶,
dr Anna Kopińska⁷, dr Wanda Knopińska-Posłuszny⁸,
dr Edyta Subocz⁹, lek. Bartłomiej Pogłódek¹⁰,
dr Dorota Krochmalczyk¹¹, dr Agnieszka Kopacz¹²,
dr Maria Soroka-Wojtaszko¹³,
dr Aleksandra Wądałowska⁵, lek. Klaudia Grądzka¹⁴,
dr Agnieszka Kołkowska-Leśniak¹⁵,
prof. Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek¹**

¹Department of Hematology, Oncology and Internal Diseases, Warsaw Medical University

²Department of Hemostasis and Internal Diseases, Institute of Hematology and Transfusiology, Warsaw

³Department of Hematology, Voivodal Specialistic Hospital, Kraków

⁴Department of Clinic and Haematology, Blood Neoplasms and Bone Marrow Transplantation, Medical University, Wrocław

⁵Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Medical University, Gdańsk

⁶Department of Hematology, Medical University, Bydgoszcz

⁷Department of Haematology and Bone Marrow Transplantation, Silesian Medical University, Katowice

⁸Department of Hematology SP ZOZ WMCO Oncology Center, Olsztyn

⁹Department of Hematology and Internal Diseases, Military Institute of Medicine, Warsaw

¹⁰Department of Hematology, Specialistic Hospital, Brzozów

¹¹Department of Hematology, Department of Hematology, Jagiellonian University, Kraków

¹²Voivodal Specialistic Hospital, Rzeszów

¹³Department of Hematology, Medical University, Lublin

¹⁴Department of Hematology, Medical University, Białystok

¹⁵Department of Hematology, Institute of Hematology and Transfusiology, Warsaw

Introduction: Three CMML categories were introduced in the 2016 revised classification based on blast marrow and blood percentage.

Aim: In the study we evaluated its prognostic value as well as other laboratory and clinical factors impact on survival.

Material and methods: Between 2009-2017 221 CMML patients were registered prospectively in the Polish MDS Registry by PALG-MDS-Group. Data were reported from 20 Polish hematological centers. Epidemiological, clinical and laboratory data were obtained. Both WHO 2008 and 2016 classifications were applied.

Results and conclusions: Median age was 68 (range 23-93), 144 (65.2%) patients were males and 77 (34.8%) females. According to WHO 2016 classification 38% cases belonged to CMML 0 subtype, 33% CMML 1 and 27% CMML 2 and according to WHO 2008 72% cases were CMML 1 and 28% CMML2. Patients with WBC < 13 x 10⁹/L accounted for 41.2% and with WBC ≥ 13 x 10⁹/L 58.8% of patients. Cytogenetics was available in 169 (76.5%) patients. Most of cases showed low risk karyotype by IPSS 82% and by CPSS 81%. The IPSS score was lower risk in 68% and higher in 32%. The low, intermediate-1, intermediate-2 and high risk CPSS subgroups were represented by 21%, 31%, 41% and 7% patients respectively. Median survival in the whole series was 676 days. Univariate analysis showed that hemoglobin < 10 g/dL, platelets < 50 x 10⁹/L, white blood cell count ≥ 13 x 10⁹/L, presence of circulating immature myeloid cells, marrow blasts > 5%, splenomegaly, RBC and platelet transfusion dependency, elevated LDH activity, hypoalbuminemia, ferritin concentration > 1000 ng/mL, CPSS higher score and CMML 1 and 2 subtypes by WHO 2016 but not CMML 2 subtype by WHO 2008 and higher IPSS were poor prognostic factors ($p < 0.05$). In multivariate analysis only platelet transfusion dependency, elevated LDH, splenomegaly and advanced CMML subtypes by WHO 2016 were unfavorable prognostic markers ($p < 0.05$). Incorporating CMML 0 in 2016 CMML classification makes more precise prognostication of CMML patients possible. Further studies with implementing new categories are needed and might be useful for earlier access to novel therapies e.g. hypomethylating agents.

Plakaty

**P1. AMIFOSTYNA –
OPCJA TERAPEUTYCZNA W ZESPOŁACH
MIELODYSPLASTYCZNYCH NISKIEGO
I POŚREDNIEGO I RYZYKA**

**dr hab. Bożena Sokołowska,
lek. med. Daria Majowicz,
lek. med. Magdalena Koziół,
dr n. med. Maria Soroka-Wojtaszko,
dr hab. n. med. Marek Hus**

Katedra i Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku,
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Zespoły mielodysplastyczne (*myelodysplastic syndromes* – MDS) to heterogenna grupa chorób, w których dochodzi do zaburzeń hematopoetycznej komórki macierzystej, powodujących nieefektywną

hematopoezę. Skutkuje to jedno-, dwu- lub trójliniową cytopenią oraz podwyższonym ryzykiem transformacji do ostrej białaczki szpikowej (OBS). W zależności od ryzyka wg IPSS opcje terapeutyczne są odmienne. Pacjenci niskiego i pośredniego I ryzyka są ściśle obserwowani pod kątem transformacji do OBS i leczeni objawowo. Amifostyna – związek tiolowy – jest stosowany jako paliatywna terapia w zespołach mielodysplastycznych niskiego ryzyka oraz pośredniego I. Mechanizm działania amifostyny polega na hamowaniu apoptozy. Stosowana jest razem z ciprofloksacyną, deksametazonem oraz pentoksyfiliną, które wzmagają jej działanie antyapoptotyczne.

Cel: Ocena skuteczności amifostyny u pacjentów z MDS niskiego i pośredniego I ryzyka wg IPSS.

Materiał i metody: Od września 2013 r. rozpoczęto stosowanie amifostyny wg schematu A. Razy i wsp. (w modyfikacji własnej) u pacjentów z MDS w niższych stopniach ryzyka. Dotychczas leczenie zastosowano u 17 pacjentów – 8 kobiet i 9 mężczyzn. U większości obserwowano dwuliniową cytopenię. Amifostyna podawana była 3 razy w tygodniu – 250 mg *i.v.* wieczorem i rano (z zachowaniem 12-godzinnej przerwy). Ponadto w dniach 1.–5. pacjenci otrzymywali 4 mg *p.o.* deksametazonu, 500 mg ciprofloksacyny *p.o.* 2 razy w tygodniu oraz 400 mg pentoksyfiliny *p.o.* 3 razy w tygodniu.

Wyniki: Średnia wieku wynosiła 70 lat, średni czas leczenia 16,3 miesiąca, średnia przerwa pomiędzy cyklami 63 dni. Działania niepożądane związane z wlewem amifostyny były miernie wyrażone – odnotowano przejściowe obniżenie ciśnienia tętniczego krwi, zawroty głowy oraz nudności i wymioty. Wzrost poziomu neutrofilii obserwowano u 33% chorych (5/15), płytek krwi – u 40% (6/15), a hemoglobiny u 73% (11/15). U kilku chorych uzyskano zmniejszenie częstości transfuzji preparatów krwiopochodnych, natomiast u jednego chorego uniezależnienie od transfuzji na okres 1,5 roku.

Wnioski: Zastosowanie amifostyny w leczeniu chorych z MDS niskiego oraz pośredniego I ryzyka przyczynia się do stabilizacji parametrów morfologii krwi, w szczególności układu czerwonekrwinkowego. Wiąże się to ze zmniejszeniem częstotliwości transfuzji preparatów krwiopochodnych.

Wstęp: Translokacje obejmujące region prążka q26 długiego ramienia chromosomu 3 pary są rzadkimi, ale powtarzającymi się aberracjami w przebiegu ostrej białaczki szpikowej (AML), zespołów mielodysplastycznych (MDS) i innych nowotworów mieloproliferacyjnych (MPN) i stanowią niekorzystny czynnik prognostyczny. Większość przypadków obejmuje inv(3)(p21q26)/t(3;3)(p21;q26), natomiast do rearanżacji genu MECOM (EVI1) z locus 3q26 dochodzi również w wyniku translokacji wariantowych, np. translokacji (2;3)(p15~p23;q26). Do tej pory opisano kilkadziesiąt przypadków z tą translokacją w przebiegu AML oraz nieliczne w MDS, kryzie blastycznej przewlekłej białaczki szpikowej i pozostałych MPN.

Cel: Poniższa praca prezentuje dwa kolejne przypadki z obecnością t(2;3)(p15~p21;q26) i rozpoznaniem innym niż AML *de novo*. Pacjent, lat 62, z rozpoznaniem CMML-2 z uwagi na ogólny stan zdrowia poddany leczeniu hypometylującemu oraz pacjentka, lat 60, z rozpoznaniem MDS-EB2 poddana dwukrotnej allogenicznej transplantacji krwiotwórczych komórek macierzystych.

Materiał i metody: W chwili diagnozy wykonano ocenę kariotypu komórek szpiku kostnego oraz analizę techniką FISH z zastosowaniem trójkolorowej sondy EVI1(MECOM) typu *break apart*.

Wyniki i wnioski: Wykazano obecność translokacji obejmujących 3q26 i potwierdzono rearanżację genu MECOM (EVI1), wykazując jednakowe wzory hybrydyzacji, natomiast w translokacji zaangażowane były różne regiony 2p (odpowiednio 2p15 oraz 2p21). U obydwu pacjentów doszło do szybkiej progresji do AML z opornością na stosowane metody leczenia i krótkim, poniżej jednego roku, całkowitym czasem przeżycia. W dotychczasowych badaniach wykazano brak produktu fuzyjnego z zaangażowaniem genu MECOM (EVI1) w inv(3)/t(3;3), a jego aktywacja odbywa się poprzez przeniesienie genu MECOM w region promotora genu GATA2 (3q21.3). Natomiast nadal nie określono sposobu aktywacji tego genu w pozostałych translokacjach z zaangażowaniem regionu 3q26. Istnieją również doniesienia o samoregulacji różnych izoform genu MECOM. Obydwa prezentowane przypadki potwierdzają, że to rearanżacja genu MECOM, bez względu na region ramienia 2p zaangażowanego w translokację, połączona jest z niekorzystnym przebiegiem klinicznym niezależnie od strategii postępowania terapeutycznego, i są dodatkowym głosem w dyskusji nad złożonością procesu aktywacji genu MECOM i roli genów partnerów w translokacjach.

P2. ZESPÓŁ MIELODYSPLASTYCZNY I PRZEWLEKŁA BIAŁACZKA MIELOMONOCYTOWA Z TRANSLOKACJĄ (2;3)(P15~21;Q26)

Iwona Koperska-Grzyb¹, Małgorzata Jakóbczyk², Katarzyna Kamska², dr Patrycja Mensah-Glanowska², dr Małgorzata Rażny¹, dr hab. Beata Piątkowska-Jakubas², prof. Aleksander Skotnicki²

¹Szpital Specjalistyczny im. L. Rydygiera w Krakowie

²Szpital Uniwersytecki w Krakowie

P3. POWIKŁANIA INFEKCYJNE U CHORYCH NA MDS I AML LECZONYCH AZACYTYDYNĄ

dr n. med. Maria Soroka-Wojtaszko,
lek. Daria Majowicz, lek. Magdalena Kozioł,
dr hab. n. med. Bożena Sokołowska,
dr n. med. Tomasz Gromek, dr n. med. Justyna Kozińska,
dr hab. n. med. Marek Hus,
dr hab. n. med. Ewa Wąsik-Szczepanek,
dr n. med. Agnieszka Kowalik,
dr n. med. Waldemar Tomczak,
dr n. med. Małgorzata Kowal,
lek. med. Halina Śpiewak-Stoń,
lek. Aneta Szudy-Szczyrek

Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku w Lublinie

Wstęp: Azacytydyna jest lekiem z grupy antymetabolitów pirymidyny i stanowi opcję terapeutyczną dla pacjentów z zespołem mielodysplastycznym (*myelodysplastic syndrome* – MDS) ryzyka pośredniego II i wysokiego oraz ostrą białaczką szpikową (*acute myeloid leukemia* – AML) niekwalifikujących się do intensywnej chemioterapii. W trakcie podawania leku obserwowano liczne powikłania infekcyjne, występujące z różną częstotnością zależną od cyklu leczenia.

Cel: Ocena liczby i rodzaju powikłań infekcyjnych w trakcie terapii azacytydyną.

Materiał i metody: Od 2011 r. w naszej Klinice podjęto leczenie azacytydyną u 66 pacjentów. Mężczyźni stanowili M = 39 (59%), kobiety K = 27 (41%). Chorzy na MDS pośredniego II oraz wysokiego ryzyka stanowili 50%, chorzy na AML 50%. Mediana wieku wyniosła 65,7 (36–83). Średnia liczba cykli wynosiła 4,86, łącznie podano 321 cykli. Wcześniejszą chemioterapię otrzymało 20 pacjentów (30%). W założeniu azacytydynę stosowano w dawce 75 mg/m² w dniach 1.–7. w cyklach 28-dniowych.

Wyniki i wnioski: Powikłania infekcyjne obserwowano w trakcie 77 cykli (24%). Epizody infekcyjne po 1. cyklu leczenia wystąpiły u 29 chorych (44%), po 2. cyklu u 16 (24%), po 3. cyklu leczenia u 12 (18%), po 4. cyklu u 10 (15%). Wśród 66 pacjentów leczonych u 23 (35%) nie obserwowano powikłań infekcyjnych w trakcie terapii lub bezpośrednio po jej zakończeniu. Wśród pozostałych 43 pacjentów obserwowano 91 epizodów infekcyjnych. Najwięcej powikłań było związanych z drogami oddechowymi – 47 (52%). W dalszej kolejności występowały uogólnione infekcje – 21 przypadków (23%), zakażenia skóry i tkanki podskórnej – 14 przypadków (15%). Pozostałe 9 epizodów (10%) stanowiły inne, rzadziej występujące infekcje. Wśród patogenów bakteryjnych najczęściej izolowane były *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. W 3 przypadkach wyizolowano wirus grypy (w tym 1 przypadek AH1N1). Inwazyjna choroba grzybicza najczęściej przebiegała w postaci kandydozy, 3 przypadki (3%) stanowiła aspergiloza. Powikłania infekcyjne

w trakcie leczenia azacytydyną obserwowane są najczęściej w początkowych cyklach leczenia. Udokumentowane zgony, występujące w korelacji z leczeniem azacytydyną, były najczęściej związane z posocznicą – 12 przypadków (18% pacjentów). Aktualnie leczenie kontynuuje 10 pacjentów, głównie w trybie ambulatoryjnym. Pozostali pacjenci zostali objęci intensywnym protokołem chemioterapii lub skierowani do dalszego leczenia objawowego i obserwacji w trybie ambulatoryjnym (brak informacji o ich dalszych losach).

P4. CELOWANE SEKWENCJONOWANIE NASTĘPNEJ GENERACJI WYBRANYCH GENÓW U CHORYCH Z ZESPOŁAMI MIELODYSPLASTYCZNYMI

dr hab. Lidia Gil¹, dr Katarzyna Kiwerska²,
Ewelina Kowal², mgr Adam Ustaszewski²,
Łukasz Pruchniewski¹, Katarzyna Brzeźniakiewicz³,
Monika Przybylska¹, Joanna Czerwińska-Rybak¹,
prof. Mieczysław Komarnicki¹,
dr hab. Małgorzata Jarmuż-Szymczak²

¹Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

²Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Poznań

³Oddział Hematologii, Wielospecjalistyczny Szpital Wojewódzki w Gorzowie Wlkp.

Wstęp: Zespoły mielodysplastyczne (*myelodysplastic syndrome* – MDS) stanowią zróżnicowaną pod względem klinicznym i genetycznym grupę klonalnych nowotworów krwi, charakteryzującą się nieefektywną hematopoezą oraz zwiększonym ryzykiem transformacji do ostrej białaczki szpikowej (*acute myeloid leukemia* – AML). W oparciu o sekwencjonowanie następnej generacji (NGS) potwierdzono, że ponad 90% pacjentów z MDS jest nosicielami mutacji. Do genów, w których mutacje są wykrywane najczęściej, należą: ASXL1 (29%), TP53 (21%), DNMT3A (18%) i RUNX1 (16%).

Cel: Celem projektu była analiza mutacji w genach związanych z MDS (SF3B1, SFRP2, U2AF1, ZRSR2, TET2, DNMT3A, TP53, ASXL1 i RUNX1) u chorych z potwierdzoną chorobą.

Materiał i metody: Materiałem do badań było DNA wyizolowane ze szpiku kostnego chorych na MDS. Przeprowadzono sekwencjonowanie 67 eksonów wybranych genów 16 chorych z wykorzystaniem metody NGS, a następnie potwierdzono wykryte mutacje metodą sekwencjonowania Sangera.

Wyniki: Metoda NGS pozwoliła zidentyfikować 20 mutacji w 7 z 9 analizowanych genów, przy czym u 81,25% (13/16) badanych występowała przynajmniej jedna mutacja, a współwystępowanie mutacji w kilku genach stwierdzone zostało u 56% (9/16) chorych. Metodą Sangera potwierdzono obecność 75% (15/20)

mutacji wykrytych za pomocą NGS. U dwóch pacjentów ze złym przebiegiem klinicznym wykryto wariant c.1934dupG w genie ASXL1, dodatkowo zaobserwowano występowanie drugiej zmiany c.284C>A w genie SRSF2 u jednego pacjenta, a u drugiego wariant c.509-2A>C w RUNX1. U chorego z szybką progresją MDS do AML zaobserwowano 4 warianty: dwa w genie TET2 (c.4044+2dupT, c.4076G>T), jeden w SF3B1 (c.4076G>T) oraz jeden w ASXL1 (c.1945G>T). Ponadto wykryto 2 zmiany w genie TET2 c.4076G>T oraz c.4638G>C, a jedną c.1014+1G>T w DNMT3A, które nie zostały jeszcze opisane.

Wnioski: Uzyskane wyniki pozwoliły na zidentyfikowanie 15 wariantów sekwencji. Zmiana c.1934dupG w genie ASXL1 wystąpiła u dwóch pacjentów ze złym przebiegiem klinicznym. Mimo że badana grupa była nieliczna, wykryto dotąd nieopisane warianty, co wskazuje na heterogenne podłoże genetyczne MDS oraz konieczność prowadzenia dalszych badań.

PRZESZCZEPY AUTOLOGICZNE I ALOGENICZNE – NOWE PERSPEKTYWY

PRZEWODNICZĄCY:
A. LANGE (WARSZAWA),
J. WACHOWIAK (POZNAŃ)

Plakaty

P1. UDZIAŁ SFINGOZYNO-1-FOSFORANU WE WSZCZEPIENIU I ZASIEDLANIU NISZY SZPIKOWEJ PRZESZCZEPIONYCH KOMÓRKI MACIERZYSTE

mgr Mateusz Adamiak¹, dr Sylwia Borkowska²,
dr Marcin Wysoczyński³, dr Malwina Suszyńska²,
dr hab. Magdalena Kucia^{1,2}, dr Ahmed Abdel-Latif⁴,
dr hab. Janina Ratajczak²,
prof. dr hab. Mariusz Z. Ratajczak^{1,2}

¹Zakład Medycyny Regeneracyjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Stem Cell Institute, James Graham Brown Cancer Center, University of Louisville, Louisville, USA

³Institute of Molecular Cardiology, University of Louisville, Louisville, USA

⁴Division of Cardiovascular Medicine, Gill Heart Institute, University of Kentucky, Lexington, USA

Wstęp: Czynniki pochodzenia stromalnego 1 (SDF-1) wraz z receptorem CXCR4 kieruje migracją krwiotwórczych komórek macierzystych (KKM) w niszę szpikową. Wykazano natomiast, że KKM wątroby płodowej porbrane od płodów pozbawionych CXCR4 wszczepiają się

do niszy szpikowej myszy zdrowych, co wskazuje na znaczącą rolę innego dodatkowego chemoatraktantu biorącego udział w migracji i wszczepianiu KKM. Wykazano, że jednym z najsilniejszych jest bioaktywny fosfosfingolipid sfingozyno-1-fosforan (S1P), który bierze m.in. udział w mobilizacji KKM z niszy szpikowej do krwi obwodowej. Jego poziom w organizmie regulowany jest poprzez równowagę pomiędzy kinazą sfingozyny typu 1 (SphK1) oraz liazą S1P. Hamowanie liazы wpływa negatywnie na uwalnianie KKM z niszy szpikowej do krwi obwodowej, co sugeruje na udział S1P w retencji KKM.

Cel: Celem pracy było zbadanie roli S1P we wszczepieniu oraz zasiedlaniu niszy szpikowej przez KKM na modelu zwierzęcym z użyciem myszy pozbawionych SphK1 oraz mysich KKM pozbawionych receptora CXCR4 (CXCR4^{-/-}).

Materiał i metody: Oznaczenie stopnia wszczepienia, zasiedlania oraz odnowy hematologicznej zostało dokonane na myszach typu KO z defektem SphK1, gdzie grupę kontrolną stanowią myszy typu dzikiego (WT). Zwierzęta zostały poddane działaniu letalnej dawki promieniowania γ , KKM WT lub CXCR4^{-/-} zostały przeszczepione przez żyłę ogonową. Ocena parametrów retencji KKM została dokonana na podstawie analizy hematologicznej, analizy cytometrycznej oraz testów klonogennych (CFU-GM, CFU-S).

Wyniki i wnioski: Badania wykazały, że odpowiedź chemotaktyczna na gradient S1P KKM myszy WT oraz CXCR4^{-/-} była podobna *in vitro*. Zaobserwowano natomiast osłabiony proces wszczepienia i zasiedlania KKM WT do szpiku i śledziony myszy SphK1^{-/-} w porównaniu z myszami WT, a procesy te z użyciem KKM od zwierząt CXCR4^{-/-} były w jeszcze wyższym stopniu upośledzone. Ponadto wykazano defekt hematologicznej odnowy po przeszczepieniu KKM oceniany na podstawie liczby leukocytów oraz płytek krwi u myszy SphK1^{-/-} przeszczepionych KKM WT w porównaniu z myszami kontrolnymi, a defekt ten był jeszcze większy po przeszczepieniu komórek CXCR4^{-/-}. Wyniki naszych badań wskazują na nowo zidentyfikowaną rolę S1P we wszczepieniu i zasiedlaniu niszy szpikowej przez KKM. Oznacza to, że pomimo wiodącej roli osi SDF-1-CXCR4 w retencji KKM istnieją inne czynniki niezależne od SDF-1, które koordynują ten proces. Niezbędne są dalsze badania potwierdzające udział innych potencjalnych czynników, takich jak C1P, ATP, UTP czy PGE2 w tym zjawisku.

Praca finansowana w ramach grantu Harmonia NCN UMO-2014/14/M/NZ3/00475 oraz Preludium NCN UMO-2016/23/N/NZ4/03345.

Introduction: Stromal cell-derived factor 1 (SDF-1), along with the CXCR4 receptor, directs the migration of hematopoietic stem cells (HSC) into the bone marrow (BM). However, It has been shown that CXCR4^{-/-} fetal liver HSCs home to BM in an SDF-1-independent manner, indicating the significant role of another additional

chemoattractant involved in migration of the HSC. It has been shown that one of the most potent is the bioactive phosphosphingolipid sphingosine-1-phosphate (S1P), which participate in mobilization of the HSC from the BM to peripheral blood (PB). Its level in the body is regulated by the balance between sphingosine kinase type 1 (SphK1) and S1P lyase. Inhibition of lyase negatively affects the release of HSC from BM to PB, suggesting that S1P is involved in HSC retention.

Aim: The aim of the study was to investigate the role of S1P in homing and engraftment of the BM by HSC using SphK1 deficient mice and murine CXCR4-deficient HSC (CXCR4^{-/-}).

Material and methods: The level of homing, engraftment and hematological recovery was determined on SphK1-KO mice, where the control group was wild type (WT) one. Animals were exposed to the lethal dose of γ -irradiation, WT or CXCR4^{-/-} HSC were transplanted through the tail vein. Evaluation of HSC retention parameters was made based on hematological analysis, cytometric analysis and clonogenic tests (CFU-GM, CFU-S).

Results and conclusions: Studies have shown that the chemotactic response of WT and CXCR4^{-/-} HSC to the S1P gradient was similar *in vitro*. However, impaired homing and engraftment of WT HSC into BM and spleen of SphK1^{-/-} mice compared to WT was observed, and these processes with HSC from CXCR4^{-/-} animals were even more reduced. In addition, a hematological defect after HSC transplantation was assessed based on leukocyte and platelet counts in SphK1^{-/-} mice transplanted with WT HSC compared to control mice. This defect was even greater after CXCR4^{-/-} HSC transplantation. Our findings point to the newly identified role of S1P in homing and engraftment of HSC in the BM. This means that despite the leading role of the SDF-1-CXCR4 axis in HSC retention, there are others SDF-1 independent factors that orchestrated this process. Further studies are needed to confirm the presence of other potential factors such as C1P, ATP, UTP or PGE2 in this phenomenon.

This work was supported by Harmonia NCN grant UMO-2014/14/M/NZ3/00475 and Preludium NCN grant UMO-2016/23/N/NZ4/03345.

P2. BIOSIMILAR G-CSF VERSUS FILGRASTIM AND LENOGRASTIM IN HEALTHY UNRELATED VOLUNTEER HEMATOPOIETIC STEM CELL DONORS

Roiya Farhan¹, dr hab. n. med. Emilian Snarski¹, dr Elżbieta Urbanowska¹, dr Hanna Zborowska¹, Małgorzata Król¹, Maria Król¹, Tigran Torosian², Iwona Piotrowska², Krzysztof Bogusz¹, dr Kamila Skwierawska¹, prof. Wiesław Wiktor Jędrzejczak¹

¹Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Fundacja DKMS

Introduction: The World Marrow Donor Organization recommends original granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) for mobilization of stem cells in healthy unrelated hematopoietic stem cell donors.

Aim: We report the comparison of a biosimilar G-CSF with two original G-CSFs (filgrastim and lenograstim) in mobilization in unrelated donors.

Material and methods: We included data of 313 consecutive donors who were mobilized during the period from October 2014 to March 2016 at the Medical University of Warsaw. The primary endpoints of this study were efficiency of CD34⁺ cell mobilization to the circulation and results of the first apheresis.

Results: The mean daily dose of G-CSF was: 9.1 μ g/kg for lenograstim, 9.8 μ g/kg for biosimilar filgrastim and 9.3 μ g/kg for filgrastim ($p < 0.001$). The mean CD34⁺ cell number per μ l in the blood before the first apheresis was 111 for lenograstim, 119 for biosimilar filgrastim, and 124 for filgrastim ($p = 0.354$); the mean difference was even less significant when comparing CD34⁺ number per dose of G-CSF/kg ($p = 0.787$). Target doses of CD34⁺ cells were reached with one apheresis in 87% donors mobilized with lenograstim and in 93% donors mobilized with original and biosimilar filgrastim ($p = 0.005$). The mobilization efficiency (mean number of CD34⁺ cells/kg of donor collected during the first apheresis) was similar with lenograstim, biosimilar filgrastim and filgrastim: 6.2×10^6 , 7.6×10^6 and 7.3×10^6 respectively; $p = 0.06$). There was no mobilization failure in any of the donors.

Conclusions: Biosimilar G-CSF is as effective in mobilization of hematopoietic stem cells in unrelated donors as original G-CSFs. Small and clinically irrelevant differences seen in the study can be contributed to differences in G-CSF dose and collection related factors. The further prospective studies are needed to evaluate short and long term complications.

P3. ZACHOWANIA ŻYWIENIOWE PACJENTÓW PO ALLOGENICZNYCH TRANSPLANTACJACH SZPIKU KOSTNEGO

dr Anna Kwiatkowska-Pamuła¹, dr hab. Ewa Ziółko¹,
mgr Martyna Lampa²,
mgr Joanna Jurkiewicz-Przondziona²

¹Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych, Szpital nr 1 w Bytomiu, Oddział Hematologii

²Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu

Wstęp: Prawidłowe, racjonalne żywienie jest nieodłącznym elementem leczenia pacjentów po allogenicznym przeszczepieniu szpiku kostnego. Prawidłowe odżywianie, adekwatne do zapotrzebowania pacjenta i jego stanu klinicznego, przyczynia się do zmniejszenia częstości występowania powikłań i śmiertelności.

Cel: Celem pracy była ocena zachowań żywieniowych pacjentów po allogenicznym przeszczepieniu szpiku kostnego oraz identyfikacja najczęstszych błędów żywieniowych popełnianych przez badanych.

Materiał i metody: Badaniem objęto 27 losowo wybranych osób po allogenicznym przeszczepieniu szpiku kostnego. Narzędziem badawczym był autorski, anonimowy kwestionariusz ankiety. Uzyskane dane żywieniowe skonfrontowano z ogólnodostępnym przewodnikiem dla pacjentów po przeszczepieniu szpiku kostnego z 2005 r. Dodatkowo, wykorzystując dane z ankiety, dokumentacji chorych oraz pomiaru aktualnej masy ciała badanych pacjentów, dokonano porównania masy pacjentów z okresu przed leczeniem oraz po leczeniu.

Wyniki: Spadek masy ciała zaobserwowano u 77,8%. 22,2% pacjentów zwiększyło masę ciała. Jedynie 44,4% chorych posiadało wagę prawidłową. Najwięcej osób badanych stosuje gotowane potrawy – 44,4%. Jedynie 22,2% wśród ankietowanych nie spożywa smażonych produktów i potraw. Ryby jedynie 11% spożywa raz w tygodniu. Również 11% raz w miesiącu spożywa owoce morza. Najczęściej spożywanymi produktami mlecznymi były kefiry i jogurty (88,9% badanych). Najrzadziej spożywanym produktem mlecznym był ser pleśniowy. 44,4% preferuje surowe owoce obrane ze skóry, 22,2% owoce po obróbce termicznej, a pozostali bez uwzględniania jakichkolwiek ograniczeń technologicznych. Produkty ciężkostrawne najczęściej stosowane to: cebula i czosnek (44,4%). 33,3% spożywa rośliny strączkowe raz na tydzień, a 11,1% sięga po grzyby (raz na miesiąc). Spożywanie dań instant i typu fast food deklarowało 44,4%, podobnie jak produktów konserwowych, kwaszonych i wędzonych. Orzechy i bakalie sporadycznie jada 44,4% badanych. Zaobserwowano, że 55,5% osób wypija niewystarczającą ilość, tj. poniżej 2 l, płynów na dobę.

Wnioski: U większości badanych pacjentów zauważono nieprawidłowe zachowania żywieniowe. Do najczęściej występujących błędów żywieniowych zaliczyć

można: spożywanie produktów typu instant i fast food oraz konserwowych, kwaszonych i wędzonych, niedostateczną ilość warzyw i owoców oraz niską podaż płynów.

P4. PORÓWNANIE SKUTECZNOŚCI I BEZPIECZEŃSTWA TRANSPLANTACJI ALLOGENICZNYCH KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH POPRZEDZONEJ MIELOABLACYJNYM KONDYCYJONOWANIEM OPARTYM NA BUSULFANIE I CYKLOFOSFAMIDZIE (BUCY) LUB NA BUSULFANIE I FLUDARABINIE (BUFLU) U CHORYCH NA OSTRE BIAŁACZKI SZPIKOWE

dr Anna Łojko-Dankowska¹,
dr Patrycja Mensah-Glanowska²,
dr Barbara Nasiłowska-Adamska³,
dr Magdalena Matuszak¹,
dr hab. n. med. Beata Piątkowska-Jakubas²,
dr Kazimierz Hałaburda³, dr hab. n. med. Anna Czyż¹,
prof. Mieczysław Komarnicki¹

¹Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego, Poznań

²Katedra i Klinika Hematologii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków

³Klinika Transplantacji Komórek Krwiotwórczych, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Wyniki leczenia z zastosowaniem przeszczepienia allogenicznych komórek krwiotwórczych (alloHCT) u chorych na ostrą białaczkę szpikową (AML) zależą od szeregu czynników związanych z chorym, chorobą i procedurą transplantacyjną. Sposób kondycjonowania może istotnie wpływać na toksyczność, śmiertelność niezwiązaną z nawrotem (NRM), przeżycie wolne od białaczki (LFS) i przeżycie całkowite (OS) po alloHCT.

Cel: Celem pracy była retrospektywna analiza skuteczności i bezpieczeństwa alloHCT poprzedzonego miełoablacyjnym kondycjonowaniem opartym na busulfanie i cyklofosfamidzie (Bu 12,8 mg/kg, Cy 120 mg/m²) lub busulfanie i fludarabinie (Bu 9,6–12,8 mg/kg, Flu 150 mg/m²) u chorych na AML leczonych w 3 ośrodkach transplantacyjnych w latach 2010–2016.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiło 114 chorych w wieku od 19 do 59 (mediana 39) lat, poddanych alloHCT od zgodnego dawcy rodzinnego ($n = 31$) lub dawcy niespokrewnionego ($n = 83$). AlloHCT przeprowadzono w pierwszej remisji AML ($n = 85$) i w awansowanej fazie choroby ($n = 29$). Kondycjonowanie BuFlu zastosowano u 69, a BuCy u 45 chorych. Mediana wieku chorych poddanych kondycjonowaniu BuFlu była znacząco wyższa (43 vs 33 lata, $p < 0,001$) w porównaniu z grupą leczoną BuCy. Nie wykazano innych różnic między porównywanymi grupami. W profilakty-

ce choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD) stosowano inhibitor kalcyneuryny i metotreksat, dodatkowo globulinę antytymocytarną w alloHCT od dawcy niespokrewnionego.

Wyniki i wnioski: U wszystkich pacjentów uzyskano rekonstrukcję krwiotworzenia. Ciężkie powikłania infekcyjne wystąpiły u 12% chorych po kondycjonowaniu BuCy i 7% po BuFlu ($p = 0,41$). Powikłania nieinfekcyjne 3.–4. stopnia obserwowano odpowiednio u 10% i 2% chorych w porównywanych grupach ($p = 0,13$). Ostra GvHD w stopniu 2.–4. wystąpiła u 9% chorych po BuCy i 12% po BuFlu ($p = 0,33$), a przewlekła GvHD odpowiednio u 25% i 10% chorych ($p = 0,064$). Mediana czasu obserwacji w badaniu wynosi 25 miesięcy (7–86). OS po 2 lata wyniosło 66% u chorych po BuCy i 66% po BuFlu ($p = 0,84$), a LFS odpowiednio 62% i 59% ($p = 0,70$). NRM po roku wyniosła 9% zarówno w grupie leczonej BuCy, jak i BuFlu ($p = 0,97$). Częstość nawrotów nie różniła się między grupami. W analizie wieloczynnikowej korzystny wpływ na OS miała szybka rekonstrukcja limfopoety (HR 0,47, $p = 0,026$). Zastąpienie kondycjonowania BuCy schematem BuFlu jest bezpieczne i nie zmniejsza skuteczności alloHCT u chorych na AML. Szybkość rekonstrukcji limfopoety wpływa na przeżycie chorych po transplantacji.

P5. RYZYKO I PRZEBIEG ZAKAŻEŃ W OKRESIE POTRANSPLANTACYJNYM U DZIECI PO PRZESZCZEPNIENIU KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH Z POWODU PRZEWLEKŁEJ CHOROBY ZIARNINIAKOWEJ

dr med. Aleksandra Krasowska-Kwiecień^{1,2},
lek. med. Magdalena Woźniak²,
dr med. Oktawiusz Wiecha²,
dr med. Wojciech Czogała²,
dr med. Agnieszka Dłużniewska²,
lek. med. Anna Sarnecka-Paruch²,
Adam Chmielewski³, dr hab. med. Jolanta Goździk^{2,4}

¹Katedra Immunologii Klinicznej i Transplantologii, *Collegium Medicum* Uniwersytet Jagielloński, Zakład Transplantologii

²Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie, Ośrodek Transplantacji

³Studenckie Koło Naukowe przy Ośrodku Transplantacji Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie

⁴Katedra Immunologii Klinicznej i Transplantologii, *Collegium Medicum* Uniwersytet Jagielloński, Zakład Immunologii

Wstęp: Przewlekła choroba ziarniniakowa (*chronic granulomatous disease* – CGD) to zaburzenie wewnątrzkomórkowego zabijania patogenów przez reaktywne związki tlenowe, prowadzące do powstawania ziarniniaków i ropni narządowych. Jedyną skuteczną

terapią tej choroby jest przeszczepienie komórek krwiotwórczych (PKK).

Cel: Celem pracy była charakterystyka powikłań infekcyjnych u dzieci z CGD po PKK.

Materiał i metody: Leczeniem objęto 15 dzieci z CGD w wieku od 10 miesięcy do 13,5 roku (średnio 6 lat), u których wykonano 18 transplantacji. Pięcioro dzieci zakwalifikowano do drugiej PKK z powodu utraty funkcji przeszczepu, do tej pory przeprowadzono trzy z nich. U 14 dzieci CGD rozpoznano po wystąpieniu poważnych narządowych zakażeń ropnych oraz u 6 jednocześnie ciężkich grzybic narządowych. W przygotowaniu do PKK zastosowano leczenie mieloablacyjne z użyciem busulfanu u 11 dzieci i leczenie ze zredukowaną intensywnością u czworga. Rekonstrukcję układu granulocytarnego ($GRAN > 500/uL$) uzyskano u 14 dzieci w czasie 24–34 dni (średnio w 30. dniu) po PKK, u 1 pacjenta nie wykazano stabilnego wszczepienia.

Wyniki: Gorączka w okresie neutropenii wystąpiła u 10 dzieci po pierwszym PKK i u 2 po drugim PKK. U dzieci tych skutecznie zastosowano standardowe leczenie empiryczne. We wczesnym okresie po pierwszym PKK u 9 pacjentów wystąpiły infekcje o ustalonym czynniku etiologicznym. Tylko u jednego była to reaktywacja zakażenia (pneumonia kropidlakowa) obecnego przed PKK. Wśród pozostałych, u 6 dzieci wystąpiły zakażenia wirusowe: CMV – 2, rotawirus – 3 oraz EBV, HSV i BKV – po 1. Grzybicę narządową *de novo* (uogólnione zakażenie drożdżakowe) stwierdzono u 1 dziecka, u kolejnego posocznice *Klebsiella pneumoniae*. U 8 pacjentów, u których zakażenia nie stanowiły reaktywacji ognisk obecnych przed PKK, skuteczne było zastosowanie leczenia celowanego. U pacjenta z reaktywacją aspergilozy występowała oporność na leczenie przy braku rekonstrukcji układu krwiotwórczego. Po drugim PKK przeprowadzonym z powodu utraty przeszczepu lub braku wszczepienia u dwojga pacjentów nastąpiła reaktywacja lub progresja zakażenia bakteryjnego lub aspergilozy płucnej, obecnych przed PKK. Pacjent z aspergilozą zmarł bez uzyskania stabilnej funkcji krwiotwórczej. Pozostałe dzieci wykazujące trwałe wszczepienie są obecnie zdrowe.

Wnioski: Zakażenia występujące po PKK z powodu CGD u dzieci uzyskujących prawidłową czynność przeszczepu są zwykle zakażeniami *de novo*, mogą być opanowane standardowym leczeniem i rzadko stanowią poważne zagrożenie życia.

Introduction: Chronic granulomatous disease (CGD) is a defect of intracellular killing of pathogens by reactive oxygen intermediates, resulting with granuloma or abscess formation. The only effective therapy is hematopoietic stem cell transplantation (HSCT).

Aim: The aim of the study was the assessment of infectious complications in children with CGD treated with HSCT.

Material and methods: The study group consisted of 15 children with CGD aged 10 months to 13.5 years (median 6 years), in whom 18 HSCTs were performed.

Five patients were qualified to the second HSCT due to graft failure and until now three of these procedures were completed. In 14 children CGD was diagnosed after internal organ involving purulent infections. Six patients were also afflicted with fungal infections. In 11 children myeloablative conditioning treatment was applied, in 4 reduced intensity treatment. Neutrophil engraftment (granulocyte count > 500/uL) was obtained in 14 patients in 24-43 days after transplant (mean 30). In one patient a stable engraftment was not achieved.

Results: Neutropenic fever affected 10 children after the first HSCT and two after the second HSCT. The standard empirical therapy was effective in all cases. In the early post-transplant period after the first HSCT in 9 patients the etiology of infection was confirmed. In one patient a recrudescence of pulmonary aspergillosis detected before HSCT was found. Among others, in 6 patients viral infections were detected: CMV-2, rotavirus-3 and EBV, HSV i BKV – 1 case each. Organ involving mycosis *de novo* (disseminated candidiasis) was diagnosed in one child, in another *Klebsiella pneumoniae* sepsis was detected. In 8 patients with infections, which were diagnosed *de novo* and not found as reactivation of pre-transplant disease, the targeted therapy was always effective. In the patient with recurrent aspergillosis, the lack of hematopoietic reconstitution was accompanied by the resistance to antifungal treatment. After the second HSCT performed due to the graft failure, in two patients the bacterial or mould infections detected before HSCT recurred. The patient with aspergillosis died without engraftment. All other patients who achieved stable hematopoietic function recovered and in current follow-up they are healthy.

Conclusions: Infections in post-transplant period in children with CGD, who present a sufficient hematopoietic function after HSCT, are usually detected *de novo* after transplant and respond well to standard treatment. Life-threatening infections are rare.

HEMATOPATOLOGIA

PRZEWODNICZACY: B. ZIARKIEWICZ-
-WRÓBLEWSKA (WARSZAWA),
H.H.KREIPE (HANOVER, NIEMCY)

Plakaty

P1. CHOROBA KIKUCHI-FUJIMOTO JAKO PROBLEM DIAGNOSTYCZNY – PRZYPADEK 37-LETNIEGO MĘŻCZYZNY

lek. Piotr Małecki¹, dr hab. n. med. Sebastian Grosicki²

¹Oddział Hematologii, SPZOZ Zespół Szpitali Miejskich w Chorzowie

²Zakład Profilaktyki Chorób Nowotworowych, Wydział Zdrowia Publicznego, SUM w Katowicach

Wstęp: Choroba Kikuchi-Fujimoto to rodzaj niezwykle rzadkiej limfadenopatii charakteryzujący się obecnością zmian martwiczych w warstwie korowej węzła chłonnego oraz gromadzeniem się w jej otoczeniu dużej ilości histiocytów. Etiologia schorzenia nie jest poznana. Sugeruje się tło infekcyjne lub autoimmunologiczne. Przebieg kliniczny charakteryzuje się limfadenopatią, która ma charakter samoograniczający się.

Materiał i metody: 37-letni pacjent przyjęty 18.02.2016 r. do Oddziału Hematologii Zespołu Szpitali Miejskich w Chorzowie z powodu podejrzenia chłoniaka z obwodowych limfocytów T. Od listopada 2015 r. u chorego obserwowano limfadenopatię szyjną po stronie prawej, a poza tym epizod kilkudniowych stanów podgorączkowych i nocnych potów. 17.12.2015 r. pobrano węzeł chłonny szyjny do badania HP i ostatecznie wynik badania weryfikacyjnego chory otrzymał 10.02.2016 r. – obwodowy chłoniak z komórek T. Przy przyjęciu do Oddziału Hematologii stan ogólny chorego był dobry. Nie zgłaszał dolegliwości. W badaniu fizykalnym nie stwierdzono limfadenopatii obwodowej ani organomegalii. Nie stwierdzono istotnych odchyśleń w badaniach laboratoryjnych. W wykonanych badaniach CT w obrębie szyi największe węzły chłonne do 15 mm średnicy. Z powodu tego, że obraz kliniczny nie odpowiadał rozpoznaniu histopatologicznemu, zdecydowano o konieczności weryfikacji rozpoznania histopatologicznego przed podjęciem decyzji terapeutycznych. 14.03.2016 r. otrzymano wynik badania weryfikującego jako węzeł o częściowo zatartej strukturze z licznymi ogniskami martwicy, brak neutrofilii i eozynofilii, rozrost limfocytów T (CD3+, CD5+), przewaga CD8 (+) nad CD4(+), obecne liczne plazmocyty, odczyn CD30 dodatni w pobudzonych limfocytach i makrofagach, limfocyty B (CD20 +) liczne, grudki chłonne zanikowe. Indeks proliferacyjny Ki67 bardzo wysoki, miejscami, wokół ognisk martwicy do 90% – obraz mikroskopowy odpowiada *necrotizing lymphadenitis* (Kikuchi disease). W PET-CT wykonanym 14.03.2016 r. jedynie miernie aktywne metabolicznie ognisko w rzucie węzłów chłonnych szyjnych po stronie lewej. Po rocznej obserwacji obwodowe węzły chłonne były niewyczuwalne.

Wyniki i wnioski: Przed podjęciem decyzji o leczeniu przeciwnowotworowym konieczna jest całościowa ocena stanu chorego, tak aby mieć pewność, że diagnoza histopatologiczna jest prawidłowo postawiona. W sytuacjach wątpliwych, szczególnie jeżeli kondycja chorego poprawiła się w czasie diagnostyki, konieczna jest weryfikacja diagnozy histopatologicznej.

P2. PROFIL WSKAŹNIKÓW PŁYTKOWYCH U PACJENTÓW POPULACJI PEDIATRYCZNEJ Z ROZPOZNANIEM POSOCZNICY

dr n. med. Monika Richert-Przygońska¹,
Agnieszka Jank², Monika Sypniewska²,
Natalia Ławrecka², Marcin Kawałekiewicz²,
prof dr hab. n. med. Jan Styczyński¹

¹Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, CM UMK w Bydgoszczy

²Studenckie Towarzystwo Naukowe przy Klinice Pediatrii, Hematologii i Onkologii, CM UMK w Bydgoszczy

Wstęp: Średnia objętość płytek krwi (MPV) jest jednym z uznanych wskaźników funkcji i aktywacji płytek krwi. Uważa się, że wzrost wartości MPV może wskazywać na zwiększone ryzyko wystąpienia zmian zakrzepowych oraz uogólnionego stanu zapalnego, zwłaszcza u pacjentów krytycznie chorych.

Cel: Celem pracy była analiza wartości prognostycznej liczby płytek krwi (PLT) oraz wartości wybranych wskaźników płytkowych (MPV, PDW, PCT, MPV/PLT, MPV/PDW) w ocenie ciężkości przebiegu posocznicy w populacji pediatrycznej.

Materiał i metody: Badanie przeprowadzono w oparciu o dokumentację pacjentów pediatrycznych hospitalizowanych z powodu posocznicy. Parametry płytkowe oceniano na podstawie morfologii krwi obwodowej i analizowano w łączności z danymi klinicznymi, wykładnikami biochemicznymi i mikrobiologicznymi potwierdzającymi rozpoznanie ciężkiej ogólnoustrojowej reakcji zapalnej.

Wyniki: Przeanalizowano dane dotyczące 103 dzieci z rozpoznaniem posocznicy (grupa 1). Grupę badaną dodatkowo podzielono na 2 podgrupy: pacjentów poddawanych chemioterapii z powodu rozpoznania choroby nowotworowej (grupa 1a, $n = 57$) oraz pacjentów immunokompetentnych (grupa 1b, $n = 46$). Grupę kontrolną stanowiło 89 pacjentów hospitalizowanych z przyczyn nieinfekcyjnych (grupa 2). Stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy badanymi grupami w zakresie PLT ($p < 0,001$) oraz PCT ($p < 0,001$) w momencie rozpoznania posocznicy. Nie wykazano istotnych różnic początkowych wartości MPV i PDW ($p > 0,05$). Stwierdzono istotne statystycznie różnice wartości współczynników MPV/PLT i MPV/PDW pomiędzy poszczególnymi grupami, jak również wyraźne różnice wartości współczynników w obrębie grupy badanej ($p = 0,000$; $p = 0,072$). Podgrupy 1a i 1b różniły się istotnie także w zakresie parametrów: PLT ($p < 0,001$); PDW ($p = 0,032$) i PCT ($p = 0,000$). U chorych z rozpoznaniem posocznicy wykazano istotny wzrost wartości MPV, PDW, PCT i PLT w czasie 24 godzin od momentu diagnozy. Dodatkowo wykazano istotne korelacje pomiędzy wskaźnikami płytkowymi a długością hospitalizacji oraz maksymalnym stężeniem CRP ($p < 0,005$) w grupie badanej. Nie wykazano natomiast związku po-

między wartościami badanych wskaźników płytkowych a wystąpieniem zgonu.

Wnioski: Profil parametrów płytkowych jest zmienny w przebiegu posocznicy i zależy od choroby podstawowej. Wybrane parametry płytkowe mogą stanowić łatwo dostępny marker laboratoryjny służący prognozowaniu i ocenie ciężkości przebiegu klinicznego posocznicy u dzieci.

NIEDOKRWISTOŚCI

PRZEWODNICZĄCY: B. ZDZIARSKA
(SZCZECIN), K. SUŁEK (WARSZAWA),
A. SZMIGIELSKA-KAPŁON (ŁÓDŹ)

Doniesienia ustne

TALASEMIE U PACJENTÓW Z PRAWIDŁOWYM POZIOMEM HbA2

mgr inż. Joanna Skulimowska,
mgr inż. Edyta Klimczak-Jajor, dr Paweł Turowski,
dr Katarzyna Guz, dr Ewa Mendek-Czajkowska,
prof. Ewa Brojer

Instytut Hematologii i Transfuzjologii

Wstęp: Nosicielstwo talasemii wiąże się zazwyczaj z mikrocytozą i hipochromią erytrocytów; dodatkowo w talasemii beta wartość hemoglobiny A2 jest zazwyczaj podwyższona, podczas gdy w talasemii alfa jest prawidłowa. Poziom HbA2 jest więc pierwszym markerem diagnostycznym w rozróżnieniu alfa i beta talasemii. W niektórych, na ogół łagodnych przypadkach beta talasemii, poziom HbA2 może być prawidłowy. Choroba może być niezdiagnozowana bez wykonania badań genetycznych. Podłożem ponad 90% przypadków talasemii beta są mutacje punktowe, podczas gdy talasemia alfa wynika na ogół z delecji genów HBA1 i/lub HBA2. U chorych z prawidłowym poziomem HbA2 mogą występować mutacje punktowe w genie beta globiny, delecje, a także defekty molekularne w innych obszarach globin.

Cel: Analiza mutacji determinujących alfa i beta talasemię u pacjentów z mikrocytozą i hipochromią i z prawidłowym poziomem HbA2.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiło 157 osób z mikrocytozą i hipochromią erytrocytów i poziomem HbA2 w zakresie od 1 do 3,5%. Poziom HbA2 badany był metodą mikrokolumnowej chromatografii anionowymiennej przy użyciu zestawu Beta-Thal HbA2 Quick Column (Helena Biosciences). Badania genetyczne w analizowanej grupie chorych prowadzono w czterech etapach: 1) w pierwszej kolejności w kierunku delecyjnej talasemii alfa. Wszystkim pacjentom wykonano badania metodami gap-PCR oraz MLPA. 2) U osób, u których nie wykryto delecji genów w klastrze alfa globiny, wykonano

sekwencjonowanie genu HBB w celu wykrycia mutacji punktowych. 3) Jeśli mutacji tych nie wykryto, przystępowano do sekwencjonowania genów kodujących alfa globiny, by ustalić, czy nie ma w nich mutacji punktowych. 4) U chorych, u których w żadnym z ww. badań nie wykryto mutacji, wykonywano badanie metodą MLPA wykrywającą delecje w klastrze beta globiny.

Wyniki: U 116 osób (74%) rozpoznano delecijną postać talasemii alfa. W etapie 2 u 31 chorych (20%) zidentyfikowano mutacje punktowe charakteryzujące talasemię beta. Etap 3 obejmował 10 pozostałych pacjentów, którym wykonano sekwencjonowanie genów HBA2 i HBA1, wykrywając u 5 osób (3%) mutacje punktowe. U pozostałych 5 osób (3%) wykryto delecje w klastrze beta globiny.

Wnioski: 1. Poziom HbA2 w normie nie wyklucza talasemii beta. 2. Modyfikacja algorytmu diagnostycznego – u pacjentów z mikrocytozą i hipochromią oraz z prawidłowym poziomem HbA2 należy w drugim etapie wykonać badania w kierunku talasemii beta spowodowanej mutacjami punktowymi.

PRZECIWCIAŁA TYPU ZIMNEGO NAJCZĘSTSZĄ PRZYCYNĄ NIEDOKRWISTOŚCI AUTOIMMUNOHEMOLITYCZNYCH U DZIECI

dr hab. n. med. Anna Adamowicz-Salach¹,
prof. dr hab. n. med. Michał Matysiak¹,
dr n. med. Bogumiła Michalewska²,
dr n. med. Monika Pelc-Kłopotowska²,
dr n. med. Sydonia Gołębiowska-Staroszczyk¹,
lek. med. Magdalena Wołowicz¹,
lek. med. Magdalena Romiszewska¹,
lek. med. Izabela Zdziechowicz¹,
lek. med. Anna Dusz¹, lek. med. Łukasz Hutnik¹,
lek. med. Ewelina Czajka¹,
prof. dr hab. n. med. Urszula Demkow³,
dr n. med. Justyna Bednarz²

¹Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej, IHiT w Warszawie

³Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Niedokrwistości autoimmunohemolityczne (NAIH) należą do chorób, które występują rzadko. Nadmierne niszczenie krwinek czerwonych jest spowodowane obecnością autoprzeciwciał, które są do nich skierowane. Choroba występuje zarówno u dorosłych, jak i dzieci.

Cel: Celem pracy była analiza wyników badań serologicznych dzieci leczonych z powodu NAIH.

Materiał i metody: Przeanalizowano dokumentację medyczną 74 dzieci, które były leczone z powodu niedokrwistości autoimmunohemolitycznej w latach 2000–2017. Uwzględniono tylko pacjentów, którzy

zachorowali po raz pierwszy. Pod uwagę brano wiek dziecka, wynik BTA i badanie serologiczne autoprzeciwciał przeciwytrocytarnych.

Wyniki: W badanej grupie wiek dzieci wahał się od 6 tygodni do 18 lat. Z tego 3 dzieci było poniżej pierwszego roku życia, 44 dzieci było w wieku od roku do 6 lat. W grupie wiekowej od 7. do 14. roku życia było 16 dzieci, powyżej 14. roku życia 11 chorych. Najliczniejszą grupę stanowiły dzieci z przeciwciałami typu zimnego. U 32,5% rozpoznano zimną napadową hemoglobinurę, u 17,6% chorobę zimnych aglutynin. NAIH spowodowane obecnością przeciwciał typu ciepłego wykryto u 39,1% chorych. Przeciwciała typu mieszanego znaleziono u 4,0%. W przypadku 6,8% chorych nie wykryto żadnych przeciwciał, mimo klinicznych i laboratoryjnych cech NAIH. U 10 dzieci wynik BTA był negatywny, natomiast w surowicy wykryto autoprzeciwciała.

Wnioski: Dominująca rola autoprzeciwciał typu zimnego w zachorowaniu na niedokrwistość autoimmunohemolityczną u dzieci wymaga zastosowania ochrony przed wychłodzeniem i stosowania aparatu do ogrzewania składników krwi, produktów krwiopochodnych i płynów u wszystkich chorych z podejrzeniem NAIH jeszcze przed uzyskaniem wyniku badania serologicznego.

ZNACZENIE INNYCH NIŻ STĘŻENIE HEMOGLOBINY PARAMETRÓW MORFOLOGICZNYCH W DYSKWALIFIKACJACH DAWCÓW DO ODDAWANIA SKŁADNIKÓW KRWI W ŚWIETLE OBOWIĄZUJĄCYCH PRZEPISÓW

mgr Aleksandra Misiaszek, dr Elżbieta Klaus

RCKiK we Wrocławiu

Wstęp: Podstawowym parametrem kwalifikującym dawcę do oddania krwi, zgodnie z obowiązującymi przepisami, jest stężenie hemoglobiny (Hb). U dawców oddających regularnie krew pełną raz w roku należy wykonać oznaczenie: Hb, wartość hematokrytu (Ht), liczbę krwinek czerwonych (RBC), liczbę krwinek białych (WBC), liczbę krwinek płytkowych (PLT) oraz skład procentowy krwinek białych (%WBC).

Cel: Ocena znaczenia innych niż stężenie hemoglobiny parametrów morfologicznych w dyskwalifikacjach dawców do oddawania krwi.

Materiał i metody: Analizą objęto 319 018 oznaczeń parametrów morfologicznych, w tym: 118 067 oznaczeń Hb, 91 172 badań morfologii krwi bez procentowej oceny krwinek białych oraz 109 779 morfologii krwi z procentową oceną krwinek białych (%WBC). Badania zostały wykonane u 164 530 dawców, którzy zgłosili się w celu oddania krwi, w okresie od stycznia 2014 r. do kwietnia 2017 r. Oznaczenia Hb wykonywano na hemoglobinometrze Hb 201 firmy HemoCue. Bada-

nia morfologii krwi z %WBC wykonywano na analizatorze Pentra XL80 firmy ABX HORIBA.

Wyniki: Pomiar Hb był obowiązkowym badaniem kwalifikującym do oddania krwi. Oznaczenia pozostałych parametrów morfologicznych były wykonywane przynajmniej raz w roku oraz w przypadku uzyskania, przy ostatniej donacji, wyników przekraczających zakresy przedziału referencyjnego dla danego parametru. Przeprowadzona analiza wykazała, że dla poszczególnych parametrów uzyskano następujące wyniki: dla Hb 12,5% wyników poniżej i 2,98% wyników powyżej wartości referencyjnej, dla Ht odpowiednio 11,62% i 5,96%, dla RBC 10,29% i 17,73%, dla PLT 0,44% i 0,05%, dla WBC 0,84% i 1,88%, dla %WBC 27,5% i 0,44%. Liczba dyskwalifikacji z powodu nieprawidłowych wartości parametrów morfologicznych wynosiła: 20 450 (↓ Hb), 897 (↓ WBC), 2419 (↑ WBC), 354 (↓ PLT).

Wnioski: Badanie morfologii krwi jest pomocniczym badaniem diagnostycznym umożliwiającym szybką ocenę stanu zdrowia dawcy. Najczęściej spotykanym objawem niedokrwistości u dawców jest niskie stężenie Hb, któremu towarzyszy spadek Ht i RBC. Dla prawidłowej oceny stanu układu czerwonekrwinkowego należy łącznie interpretować parametry: Hb, RBC, Ht, wskaźniki czerwonekrwinkowe, RDW, które są uzupełnieniem badania przedmiotowego i wywiadu lekarskiego.

Plakaty

P1. ZMIANY STATUSU CZĄSTECZKI CD55, REGULUJĄCEJ AKTYWNOŚĆ DOPEŁNIACZA, NA KRWINKACH CZERWONYCH PACJENTÓW Z WRODZONĄ NIEDOKRWISTOŚCIĄ HEMOLITYCZNĄ

dr Adrianna Łoniewska¹, mgr Katarzyna Koza¹,
dr Ewa Mendek-Czajkowska², mgr Paulina Wieszczy^{3,4},
dr Anna Adamowicz-Salach⁵, Katarzyna Branicka¹,
Iwona Witos¹, lek. Alicja Sapała-Smoczyńska⁶,
prof. Teresa Jackowska^{7,8},
dr hab. Jadwiga Fabijańska-Mitek¹

¹Zakład Immunohematologii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

²Poradnia dla Chorych na Wrodzone Niedokrwistości, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

³Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Onkologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

⁴Zakład Profilaktyki Nowotworów, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie

⁵Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁶Oddział Pediatrii, Szpital Bielański, Warszawa

⁷Oddział Pediatrii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

⁸Oddział Pediatrii, Szpital Bielański, Warszawa

Wstęp: Wrodzone niedokrwistości hemolityczne to heterogenna grupa anemii charakteryzujących się skróconym czasem przeżycia krwinek czerwonych spowodowanym dziedzicznymi zaburzeniami biosyntezy błony komórkowej, enzymów lub hemoglobiny. Sferocytoza wrodzona (HS) jest najczęściej występującą w rasie kaukaskiej wrodzoną niedokrwistością hemolityczną. Erytrocyty chorych charakteryzują się zmienionym kształtem (sferocyty) i wykazują obniżone zdolności reologiczne. Zmiany te wynikają z zaburzeń białkowej budowy i kompozycji błony komórkowej oraz cytoszkieletu krwinek czerwonych. Natomiast wrodzona niedokrwistość mikrocytarna może być związana z zaburzeniami gospodarki żelaza, syntezy hemu lub zaburzeniami ilościowymi podjednostek hemoglobiny (talasemie) i charakteryzuje się obniżeniem MCV < 80 fl.

Cel: Zbadanie statusu cząsteczek powierzchniowych erytrocytów, które odgrywają istotną rolę w zapobieganiu przedwczesnemu usuwaniu krwinek czerwonych z krążenia, u pacjentów z wrodzonymi niedokrwistościami hemolitycznymi o różnej etiologii: w dziedzicznej sferocytozie i mikrocytozie.

Materiał i metody: Do badania zostało włączonych 46 próbek chorych z HS i 53 pacjentów z wrodzoną mikrocytozą. Metodą cytometrii przepływowej przeanalizowano stopień wiązania przeciwciał: anti-CD55, anti-CD59, anti-CD44, anti-CD47 oraz anti-CD58 do erytrocytów pacjentów. Poziom białka CD55 w błonach krwinek czerwonych analizowano półilościową metodą Western-blot. We wszystkich badaniach kontrole stanowiły próbki krwi dawców.

Wyniki i wnioski: U większości pacjentów z HS i mikrocytozą obserwowano znaczną redukcję wiązania anti-CD55 (średnio o 23% i 19%, $p < 0,001$), jednocześnie nie obserwowano istotnych zmian wiązania anti-CD59. Oddziaływania przeciwciał anti-CD44, anti-CD47 i anti-CD58 z analizowanymi erytrocytami były w zakresie wartości kontrolnych albo w niewielkim stopniu obniżone. Analiza Western-blot wykazała zwiększoną bądź obniżoną ilość białka CD55 w błonach badanych erytrocytów. Uzyskane wyniki wskazują na obecność erytrocytów ze znacznie obniżoną prezentacją CD55 zarówno w HS, jak i mikrocytozie wrodzonej. Obserwowana zmiana prezentacji antygeny CD55 nie koreluje z ilością białka CD55 obecną w błonie erytrocytów. Dalsze badania pozwolą wyjaśnić związek zmian dotyczących białka CD55 z przedwczesnym usuwaniem erytrocytów w obu rodzajach wrodzonych anemii hemolitycznych.

P2. ODPORNOŚĆ NA STRES OKSYDACYJNY KRWINEK CZERWONYCH WE WRODZONEJ MIKROCYTOZIE, W TYM TALASEMII A

Katarzyna Koza¹, dr Adrianna Łoniewska-Lwowska¹,
dr Ewa Mendek-Czajkowska², Paulina Wieszczy^{3,4},
dr hab. Anna Adamowicz-Salach⁵,
Katarzyna Branicka¹, Iwona Witos¹,
lek. Alicja Sapata-Smoczyńska⁶,
prof. dr hab. Teresa Jackowska⁷,
dr hab. Jadwiga Fabijańska-Mitek¹

¹Zakład Immunohematologii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

²Poradnia dla Chorych na Wrodzone Niedokrwistości, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

³Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Onkologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

⁴Zakład Profilaktyki Nowotworów, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie

⁵Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁶Oddział Pediatrii, Szpital Bielański, Warszawa

⁷Oddział Pediatrii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

Wstęp: Mikrocytoza wrodzona to grupa niedokrwistości charakteryzujących się zmniejszeniem objętości krwinek czerwonych (MCV < 80 fl) i ich nasilonym usuwaniem, wynikającym z zaburzeń w syntezie hemu lub gospodarce żelaza, a także talasemii, zaburzeń ilościowych syntez globin. Talasemie to jedne z najczęstszych chorób genetycznych, występujące głównie w rejonach tropikalnych. Ich wykrywalność w populacji polskiej jest mała i rzadko są brane pod uwagę w diagnostyce wrodzonych niedokrwistości. Jedną z podstawowych przyczyn przyspieszonego usuwania erytrocytów jest stres oksydacyjny. Jego objawy obserwowano w wielu wrodzonych niedokrwistościach, w tym w talasemii β. Niewiele wiadomo na temat przyczyn usuwania krwinek czerwonych w talasemii α, ale stres oksydacyjny jest prawdopodobnie jedną z nich.

Cel: Zbadanie pojemności antyoksydacyjnej erytrocytów pacjentów z wrodzoną mikrocytozą, w tym talasemią α, w porównaniu z krwinkami pacjentów z nabytą mikrocytozą z niedoboru żelaza (IDA).

Materiał i metody: Zbadano 50 próbek mikrocytarnych, z czego 20 stanowiły próbki pacjentów z talasemią α i 10 próbek IDA; kontrolę stanowiły próbki dawców krwi. Zastosowano metodę cytometrii przepływowej i barwnik DCFH-DA utleniany w komórkach, w wyniku czego wykazuje fluorescencję proporcjonalną do ilości reaktywnych form tlenu (RFT). Badano endogenne stres oksydacyjny oraz indukowano dodatkowy stres z użyciem 300 μM H₂O₂ w celu sprawdzenia skuteczności obrony wolnorodnikowej.

Wyniki: Poziom endogennego stresu oksydacyjnego był porównywalny we wszystkich badanych próbkach. Po indukcji stresu *in vitro* poziom RFT w próbkach z mikro-

cytozą wrodzoną, w tym z talasemią α, był istotnie niższy niż w kontroli. Z kolei w próbkach pacjentów z IDA ilość RFT wyraźnie wzrastała po podaniu z zewnątrz czynnika stresowego.

Wnioski: Uzyskane wyniki mogą wskazywać na obecność w krwinkach z mikrocytozą wrodzoną, w tym z talasemią α, adaptacyjnych mechanizmów naprawczych, które pozwalają znosić skutki zwiększonego stresu oksydacyjnego. Mechanizmów takich brakuje w erytrocytach pacjentów z nabytą mikrocytozą. Warto również podkreślić, że talasemia α jest w populacji polskiej częstsza niż sądzono do niedawna; w puli badanych przez nas mikrocytoz wrodzonych o nieznanym podłożu próbki pacjentów z tą niedokrwistością stanowiły 40%.

P3. ZASTOSOWANIE ALLOADSORPCJI RÓŻNICOWEJ W CELU WYADSORBOWANIA ZIMNYCH AUTOAGLUTYNIN

mgr Katarzyna Stępień, mgr Alicja Błaszczków

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Opolu

Wstęp: ChZA charakteryzuje się obecnością patologicznych autoaglutynin klasy IgM, mających amplitudę cieplną poszerzoną do 30°C, nierzadko do 37°C. Hemoliza krwinek w ChZA może mieć gwałtowny przebieg, dlatego ich straty powodują konieczność transfuzji. Decydujące znaczenie, determinujące powodzenie doboru krwi, ma zachowanie na każdym etapie badań temperatury 37°C, stosowanie surowicy antyglobulinowej anti-IgG, a także uprzednia adsorpcja zimnych autoaglutynin krwinkami autologicznymi przeprowadzona w temperaturze 4°C.

Cel: Przedstawienie zastosowania, analogicznie jak w NAIH typu ciepłego, alloadsorpcji różnicowej przeprowadzonej w tym przypadku w 4°C, jako skutecznej metody wyadsorbowania zimnych aglutynin utrudniających wykrywanie przeciwciał odpornościowych u pacjentki z ChZA, u której standardowe procedury były nieskuteczne.

Materiał i metody: Badanie przeprowadzono u pacjentki z podejrzeniem żółtaczki hemolitycznej. Zastosowano testy mikrokolumnowe (BioRad), probówkowe (PTA LISS, PTA PEG, NaCl 20°C), testy z zastosowaniem surowicy antyglobulinowej anti-IgG z zachowaniem temperatury 37°C, przed i po zimnej autadsorpcji.

Wyniki: Grupa krwi A RhD-dodatni, BTA-dodatni, na krwinkach składowa komplementu C3d i immunoglobuliny klasy IgM. W surowicy autoprzeciwciała typu zimnego w klasie IgM o poszerzonej amplitudzie cieplnej do 30°C. Pomimo wykonania próby zgodności ściśle w 37°C uzyskano reakcje dodatnie z krwinkami w testach mikrokolumnowych i probówkowych. Pierwotnie zastosowano autadsorpcję w 4°C przez 4 godziny. Po oddzieleniu surowicy badanie ponownie przeprowa-

dzono ściśle w 37°C, uzyskując nadal reakcje dodatnie, uniemożliwiające wykluczenie alloprzeciwciał odpornościowych. Z tego powodu zastosowano dwukrotną alloadsorpcję różnicową przeprowadzoną w 4°C, do której dobrano natywne krwinki 2 dawców o przeciwnych fenotypach, w proporcji 1 : 1. Dzięki tej metodzie uzyskano ujemne reakcje z krwinkami wzorcowymi i dawców. Transfuzje krwi u pacjentki przebiegły bez powikłań. Opisany sposób postępowania został z powodzeniem zastosowany u kolejnych pacjentów.

Wnioski: Alloadsorpcja różnicowa przeprowadzona w 4°C może być skuteczną metodą wyadsorbowania zimnych autoaglutynin mających poszerzoną amplitudę cieplną, utrudniających wykrywanie alloprzeciwciał odpornościowych i dobór krwi dla pacjenta z rozpoznaną ChZA w sytuacji braku skuteczności standardowych procedur.

P4. NIEDOKRWISTOŚĆ MEGALOBLASTYCZNA W PRZEBIEGU ZESPOŁU LESCHA-NYHANA

**dr Cecilia Kämpe Björkvall¹,
dr med. Monika Klimkowska², dr Egle Sumskiene³,
dr med. Grazina Kleinotiene⁴, dr hab.,
prof. UR Maciej Machaczka^{3,5}**

¹Department of Medicine, Sunderby Regional Hospital of Norrbotten County, Luleå, Sweden

²Department of Clinical Pathology and Cytology, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

³Hematology Center Karolinska, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

⁴Centre of Hematology and Oncology, Children's Hospital, Affiliate of Vilnius University Hospital Santariskiu Clinics, Vilnius, Lithuania

⁵Wydział Medyczny, Uniwersytet Rzeszowski, Polska

Wstęp: Zespół Lescha-Nyhana (LNS) jest bardzo rzadką, wrodzoną chorobą metabolizmu puryn. Przyczyną choroby jest mutacja w genie HPRT1 na chromosomie Xq26-27 kodującym enzym fosforybozylotransferazę hipoksantynowo-guaninową (HPRT lub HGPRT). Dziedziczenie LNS jest recesywne związane z chromosomem X, chorują prawie wyłącznie mężczyźni (kobiety mogą zachorować gdy gen na drugim chromosomie X jest inaktywowany). Częstość występowania LNS wynosi 1–9 chorych na 1 mln osób. LNS to najcięższa postać niedoboru HPRT. Całkowity lub prawie całkowity niedobór HPRT powoduje rozwój choroby. Dziecko zwykle rodzi się zdrowe, ale już 3–6 miesięcy po urodzeniu ujawnia się opóźnienie rozwoju psychoruchowego. Stwierdza się hiperurykemię, zaburzenia funkcji nerek, stawów oraz układu nerwowego (zaburzenia funkcji neurologicznych, poznawczych oraz zachowania – samookaleczenie). W rzadkich przypadkach możliwe jest wystąpienie w przebiegu LNS niedokrwistości megaloblastycznej. Niedokrwistość ta nie jest stałą cechą LNS, lecz wystę-

puje tylko u niektórych chorych i jest oporna na leczenie witaminą B₁₂ oraz kwasem foliowym (FA). Uważa się, że jej przyczyną jest zwiększone zużycie FA lub B₁₂, choć nie odpowiada ona na suplementację tymi witaminami.

Cel: Przedstawiamy pacjenta z LNS z ciężką, oporną na leczenie niedokrwistością megaloblastyczną. Chorego udało się wyleczyć, stosując adeninę.

Materiał i metody: Mężczyzna lat 25 z LNS (porażenie mózgowe, zachowania autodestrukcyjne, niewydolność nerek), skierowany do hematologa z powodu utrzymującej się objawowej niedokrwistości makrocytarnej (Hb 96 g/L, MCV 114 fL) i dyskretnej małopłytkowości ($139 \times 10^9/L$), pomimo próby leczenia przez 3 miesiące B₁₂ i FA. Uprzednio przez wiele lat stabilne stężenia Hb (120–124 g/L). Szpik kostny (BM) z wyraźnymi zaburzeniami dojrzewania we wszystkich liniach hematopoezy – obraz jak MDS z wieloliniową dysplazją. Zastosowano specjalnie przygotowane (Apoteket AB) kaps. z adeniną 300 mg $\times$ 3 p.o. z dramatyczną poprawą wartości Hb w ciągu 1 miesiąca (z 100 g/L do 132 g/L). Kontrolne badanie BM po 6 miesiącach leczenia wykazało wyraźną poprawę obrazu szpiku.

Wyniki i wnioski: W prezentowanym przypadku udało się w krótkim czasie wyleczyć mężczyznę z LNS z niedokrwistości oraz uzyskać normalizację MCV, stosując adeninę. Uzyskany efekt leczenia jest trwały, utrzymuje się od ponad 6 lat. W przypadku wystąpienia niedokrwistości megaloblastycznej w przebiegu LNS należy włączyć leczenie adeniną – zapomnianą witaminą B₄.

Introduction: Lesch-Nyhan syndrome (LNS) is a very rare, inherited disease of purine metabolism. A deficiency of the enzyme hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) causes dysfunction of the nervous system and kidneys. In rare cases, an occurrence of megaloblastic anemia refractory to treatment with vitamin B₁₂ and folic acid is possible.

Aim: We present a case of a young man who developed severe megaloblastic anemia in the course of LNS. His anemia has been cured thanks to the use of adenine.

Material and methods: A 25-year-old man with LNS developed megaloblastic anemia (Hb 96 g/L, MCV 114 fL) refractory to 3 months treatment with vitamin B₁₂ and folic acid. His bone marrow (BM) examination revealed multilineage dysplasia resembling a myelodysplastic syndrome. A chronic use of oral adenine (formerly known as a vitamin B₄), in a dose of 300 mg t.i.d. rapidly cured the patient within one month (Hb concentration has increased from 100 g/L to 132 g/L). Moreover, BM biopsy taken 6 months from the start of adenine showed significantly improved results.

Results and conclusions: The patient's megaloblastic anemia has been permanently cured thanks to the chronic oral use of adenine – the forgotten vitamin B₄. The effect of the adenine therapy remains stable since 6 years until now.

P 5. WSPÓŁWYSTĘPOWANIE DWÓCH MUTACJI – DELECyjNEJ I NIEDELECyjNEJ – WARUNKUJĄCYCH ALFA TALASEMIĘ U KOBIETY POCHODZENIA KAUKASKIEGO

mgr inż. Edyta Klimczak-Jajor¹,
mgr inż. Joanna Skulimowska¹, lek. Anna Ejduk²,
dr Katarzyna Guz¹, dr Małgorzata Uhrynowska¹,
prof. dr hab. Ewa Brojer¹

¹Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej,
Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii
w Warszawie

Wstęp: Hemoglobina (Hb) Handsworth jest stosunkowo rzadkim wariantem hemoglobiny, u którego podłoża leży mutacja substytucyjna w kodonie 19 genu HBA1 lub HBA2, powodująca zmianę glicyny na argininę. Delecja $-\alpha 3.7$ jest jedną z najbardziej powszechnych delecji na świecie, także w Polsce. Wynika z rekombinacji pomiędzy powtarzającymi się fragmentami klastra alfa globiny. W niniejszym doniesieniu informujemy o wykryciu przypadku złożonej heterozygoty z mutacji delecyjnej i niedelecyjnej talasemii alfa u dorosłej kobiety.

Cel: Celem pracy jest podkreślenie faktu, że w północnej Europie występują nawet złożone przypadki talasemii alfa u osób pochodzenia kaukaskiego.

Materiał i metody: Próbkę krwi pobraną od 32-letniej kobiety poddano ocenie hematologicznej oraz badaniom w kierunku talasemii i hemoglobinopatii. Za pomocą mikrokolumnowej chromatografii anionowymiennej zbadano stężenia HbA2, metodą alkalicznej denaturacji określono poziom HbF oraz wykonano elektroforezę na żelach agarozowych w celu jakościowej oceny hemoglobin. Następnie przeprowadzono badania molekularne używając DNA wyizolowanego z krwi obwodowej za pomocą zestawu Nucleospin Dx Blood. Wykonano gap-PCR oraz MLPA w celu wykrycia delecji w genie alfa globiny oraz przeprowadzono sekwencjonowanie genów HBA1, HBA2 oraz HBB używając specyficznych primerów i zestawu odczynników ABI Prism Big Dye Terminator v1.1 Cycle Sequencing kit.

Wyniki i wnioski: Parametry hematologiczne badanej kobiety były następujące: Hb 12,5 g/dl, MCV 72,6 fl i MCH 24,8 pg, MCHC 34,2 g/dl, RDW-CV 14,3%. Poziom HbA2 wynosił 2,2%, a HbF 1,0%. W analizie elektroforetycznej zaobserwowano silnie zaznaczony prążek migrujący w pozycji hemoglobiny S w środowisku zasadowym, który pojawił się w kwaśnej elektroforezie jako słabo widoczny prążek pomiędzy hemoglobiną A a hemoglobiną F. Bezpośrednie sekwencjonowanie genu HBB nie wykazało żadnych zmian punktowych wskazujących na obecność wariantu hemoglobin. Sekwencjonowanie genów HBA1, HBA2 ujawniło obecność mutacji substytucyjnej w kodonie 19 genu HBA2 (HBA2: c.55G>C) skutkującej powstaniem wariantu hemoglobiny: Hb Handsworth. Badanie gap-PCR i MLPA wykazało, że pacjentka jest także nosicielem delecji $-\alpha 3.7$.

Powyższy przypadek potwierdza, że talasemia alfa występująca w polskiej populacji może mieć złożone podłoże genetyczne. Zastosowanie metod biologii molekularnej umożliwia jednoznaczne określenie rodzaju mutacji i jej skutków, przez co pozwala na poprawne postawienie diagnozy.

P6. RZADKIE PRZYPADKI TALASEMII BETA SPOWODOWANEJ DELECJAMI GENÓW W KLASTRZE BETA GLOBINY

mgr inż. Edyta Klimczak-Jajor¹,
mgr inż. Joanna Skulimowska¹, dr Paweł Turowski¹,
dr Małgorzata Uhrynowska¹, dr Katarzyna Guz¹,
dr Ewa Mendek-Czajkowska²,
dr hab. Anna Adamowicz-Salach³,
prof. dr hab. Ewa Brojer¹

¹Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej,
Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii
w Warszawie

³Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Warszawski
Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Zdecydowana większość przypadków (90%) talasemii beta na świecie jest wynikiem mutacji punktowych w genie beta globiny (HBB). Duże delecje obejmujące oprócz genu beta (β), także inne geny z klastra beta globiny, takie jak: gen delta (δ), gamma (γ), epsilon (ϵ), czy region regulatorowy (β LCR), stanowią tylko ok. 5% mutacji występujących w klastrze beta globiny, a skutkują nietypowym dla beta talasemii fenotypem: pozostającą w granicach normy wartością HbA2.

Cel: Celem pracy jest przedstawienie trzech różnych typów delecji wykrytych w klastrze beta globiny.

Materiał i metody: DNA wyizolowane od 5 pacjentów ze znaczną mikrocytozą i hipochromią, ale z prawidłowym poziomem HbA2, (poziomem HbF będącym w normie lub lekko podwyższonym) poddano testom genetycznym najpierw w kierunku talasemii alfa: multiplexowej reakcji gap-PCR oraz MLPA (metoda multiplexowej amplifikacji sondy zależnej od ligacji) (MR-C-Holland, Amsterdam, Holandia) z wykorzystaniem zestawu SALSA MLPA probemix P140-B4 HBA. Następnie przeprowadzono badania genetyczne w kierunku talasemii beta: bezpośrednie sekwencjonowanie genu HBB oraz MLPA z użyciem probemix P102-B2 HBB.

Wyniki: U badanych pacjentów wykluczono delecje w alfa globinie oraz mutacje punktowe w beta globinie. U wszystkich badanych wykryto delecje w klastrze beta globiny. U pacjenta 1, sześciolatniego dziecka, u którego HbA2 wynosiło 2,5%, a HbF 2,6%, stwierdzono delecję regionu regulatorowego (β LCR). U pacjenta 2, trzydziestoletniej kobiety, u której HbA2 miało wartość 2,8%, a HbF: 2,7%, wykryto delecję genów $\delta\beta$. U trzech pozostałych spokrewnionych ze sobą do-

rosłych pacjentów wykryto delecje obejmującą geny $\epsilon\gamma\delta\beta$. Wartość HbA2 u tych pacjentów wynosiła od 2,5% do 3,0%, a HbF: od 0,6% do 1,7%.

Wnioski: Przedstawione w pracy rzadkie przypadki talasemii beta będącej wynikiem delecji, są kolejnym dowodem, że talasemia występuje w polskiej populacji. Należy zaznaczyć, że prawidłowy poziom HbA2 nie wyklucza talasemii beta. Zastosowanie odpowiednich technik badań genetycznych w kierunku talasemii alfa i talasemii beta pozwalają uniknąć błędnej diagnozy.

P7. WYSTĘPOWANIE I CHARAKTERYSTYKA NIEDOKRWISTOŚCI NIEOKREŚLONYCH W POPULACJI OSÓB WIEKU ≥ 60 LAT

dr n. med. Sylwia Sulimiera Michalak¹,
dr n. med. Joanna Rupa-Matysek²,
dr hab. n. med. Lidia Gil²

¹SP ZOZ Medkol Zielona Góra

²Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Wstęp: W populacji osób w podeszłym wieku często rozpoznawana jest niedokrwistość nieokreślona. Problem ten jest mało poznany, a brak ustalonej przyczyny niedokrwistości uniemożliwia skuteczne leczenie.

Cel: Analiza występowania i potencjalnych przyczyn niedokrwistości nieokreślonej u osób w wieku ≥ 60 lat.

Materiał i metody: Retrospektywna analiza dokumentacji medycznej 169 pacjentów poradni POZ MEDKOL, u których w wieku ≥ 60 lat rozpoznano niedokrwistość, definiowaną zgodnie z kryteriami WHO, występującą w przebiegu hospitalizacji lub w trakcie leczenia ambulatoryjnego. W analizowanej grupie zbadano częstość i ciężkość niedokrwistości nieokreślonej. Dla oceny mikro-, normo- lub makrocytozy przyjęto MCV odpowiednio < 80 ; $80-100$; > 100 fl. Leukopenię definiowano jako $WBC < 4000/\mu l$, a trombocytopenię jako $PLT < 140 000/\mu l$.

Wyniki: Niedokrwistość nieokreślona wykazano u 48 osób (28,4% niedokrwistości); w tym u 25% osób w wieku 60–69 lat, 25,5% w wieku 70–79 lat i 34,5% w wieku ≥ 80 lat. Średnie stężenie Hb u kobiet z niedokrwistością nieokreślona wyniosło 10,71 g/dl ($SD \pm 1,2$ g/dl), u mężczyzn 11,88 g/dl ($SD \pm 0,8$ g/dl). Niedokrwistość łagodną ($Hb \geq 10$ g/dl) miało 100% mężczyzn, 85% kobiet ($p = 0,064$). W 70,8% występowała normocytoza, w 4,2% makrocytoza, w 2,1% mikrocytoza, w 22,9% brakowało danych na temat MCV. U 39 pacjentów (81,3%) nie była wykonana pełna diagnostyka hematologiczna, w tym u żadnego chorego nie wykonano badania szpiku, natomiast stężenie witaminy B₁₂ wykonano tylko u 6 chorych (12,5%). U 8 osób (16,7%) w ciągu 3 miesięcy przed rozpoznaniem niedokrwistości miał miejsce zabieg operacyjny. U 9 (18,6%) pacjentów nie-

dokrwistości towarzyszyły inne zaburzenia hematologiczne: w tym u 7 (14,6%) stwierdzono leukopenię lub trombocytopenię, natomiast u 2 (4,2%) makrocytozę. U żadnego pacjenta z niedokrwistością nieokreślona nie stwierdzono równoczesnej makrocytozy, leukopenii i trombocytopenii.

Wnioski: Wysoki odsetek osób z niedokrwistością nieokreślona, brak pełnej diagnostyki hematologicznej, obecności innych zaburzeń hematologicznych u prawie co piątego chorego, wskazują na potrzebę intensywnego diagnozowania i poszukiwania przyczyn niedokrwistości u osób w podeszłym wieku.

P8. WYSTĘPOWANIE, ETIOLOGIA I CZYNNIKI RYZYKA NIEDOKRWISTOŚCI W POPULACJI OSÓB W WIEKU 60 LAT I POWYŻEJ

dr n. med. Sylwia Sulimiera Michalak¹,
dr n. med. Joanna Rupa-Matysek²,
dr hab. n. med. Lidia Gil²

¹Samodzielny Publiczny Zakład Opieki Zdrowotnej MEDKOL Zielona Góra

²Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Wstęp: Niedokrwistość stanowi istotny problem kliniczny w populacji osób w wieku powyżej 60 lat. Etiologia tej niedokrwistości oraz związek z wielochorobowością nie są w pełni poznane.

Cel: Analiza występowania, etiologii, ciężkości i czynników ryzyka niedokrwistości w wieku ≥ 60 lat, z uwzględnieniem chorób współistniejących i hospitalizacji oraz analiza przeżycia badanej populacji.

Materiał i metody: Analiza retrospektywna dokumentacji medycznej 981 osób w wieku od 60 do 99 lat pozostających w opiece poradni POZ MEDKOL w latach 2013–2014. Niedokrwistość definiowano zgodnie z kryteriami WHO. W badaniu uwzględniono niedokrwistość występującą w przebiegu hospitalizacji oraz leczenia ambulatoryjnego. Analizowano obecność chorób współistniejących: układu krążenia, cukrzycy, płuc, wątroby, reumatycznych, tarczycy, nowotworowych, przewlekłej choroby nerek oraz hospitalizacje. Uwzględniono przedziały wiekowe: 60–69, 70–79 oraz ≥ 80 lat.

Wyniki: Rozpowszechnienie niedokrwistości wyniosło 17,2% i wzrastało w kolejnych przedziałach wiekowych (odpowiednio 10,3%, 20,1%, 35,6%). Najczęstszymi przyczynami niedokrwistości były: niedokrwistość chorób przewlekłych (33,1%), nieokreślona (28,4%), niedoborowa (22,5%, w tym z niedoboru żelaza 13%), oraz niedokrwistość w przebiegu chemio-/radioterapii (8,9%). Czynniki zwiększającymi prawdopodobieństwo wystąpienia niedokrwistości były: wiek ≥ 80 lat

(OR 2,29; 95% CI: 1,19–4,42; $p = 0,013$), liczba chorób współistniejących (przy obecności 2 chorób OR 2,85; 95% CI: 1,12–7,30; $p = 0,029$, przy 3 chorobach współistniejących OR 6,28; 95% CI: 2,22–17,76; $p = 0,001$, przy 4 chorobach współistniejących OR 4,64; 95% CI: 1,27–17,00; $p = 0,021$) oraz hospitalizacje (OR 1,34; 95% CI: 1,13–1,58; $p = 0,001$). Po 2 latach obserwacji skumulowane przeżycie pacjentów bez niedokrwistości w stosunku grupy z niedokrwistością wyniosło 90,76% vs 78,08% ($p < 0,001$). Czynniki zwiększającymi ryzyko zgonu w badanej populacji były: niedokrwistość (HR 3,33; 95% CI: 1,43–7,74; $p = 0,005$), choroba nowotworowa (HR 3,31; 95% CI: 1,47–7,49; $p = 0,004$) i niewydolność serca (HR 2,94; 95% CI: 1,33–6,50; $p = 0,008$).

Wnioski: Niedokrwistość w wieku ≥ 60 lat występuje często (17,2%), jej rozpowszechnienie narasta wraz z wiekiem i ma negatywny wpływ na przeżycie. Wiek ≥ 80 lat, obecność 2 lub więcej chorób współistniejących, kolejne hospitalizacje są czynnikami ryzyka niedokrwistości i wskazują na konieczność częstszej profilaktycznej kontroli morfologii krwi.

P9. STRES OKSYDACYJNY I OBRONA ANYTYOKSYDACYJNA W KRWINKACH CZERWONYCH POLSKICH PACJENTÓW Z β -TALASEMIĄ

Katarzyna Koza¹, dr Adrianna Łoniewska-Lwowska¹,
dr Ewa Mendek-Czajkowska²,
dr hab. Jadwiga Fabijańska-Mitek¹

¹Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego

²Poradnia dla Chorych na Wrodzone Niedokrwistości,
Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wstęp: Talasemia β , niedokrwistość mikrocytarna, występuje z dużą częstością w populacjach tropikalnych, ale coraz częściej jest diagnozowana u polskich pacjentów. Jej patogenezą obejmuje skrócony czas przeżycia erytrocytów oraz erytroblastów w wyniku uszkodzenia krwinek, które ma związek z nasilonym stresem oksydacyjnym. Erytrocyty pacjentów z talasemią β mogą mieć mechanizmy odporności na skutki stresu oksydacyjnego, jak zwiększone stężenie i aktywność niektórych enzymów anytyoksydacyjnych. Skutkiem stresu oksydacyjnego jest również zaburzenie struktury białek, co może wpływać na ich wzajemne oddziaływania i prezentację antygenów na ich powierzchni.

Cel: Zbadanie poziomu stresu oksydacyjnego, pojemności antyoksydacyjnej oraz zaburzeń błony komórkowej erytrocytów pacjentów z β -talasemią, w porównaniu z krwinkami pacjentów z mikrocytozą wrodzoną inną niż talasemia.

Materiał i metody: Zbadano 40 próbek pacjentów z mikrocytozą wrodzoną, z czego 10 stanowiły próbki

pacjentów z talasemią β ; kontrolę stanowiły próbki dawców krwi. Zastosowano metodę cytometrii przepływowej (FC) i barwnik DCFH-DA wykazujący fluorescencję proporcjonalną do ilości reaktywnych form tlenu (RFT). Badano endogenne stres oksydacyjny oraz indukowano dodatkowy stres z użyciem 300 μ M H_2O_2 . Metodą FC badano stopień wiązania przeciwciał przez wybrane białka błony komórkowej erytrocytów.

Wyniki: Poziom endogenne stresu oksydacyjnego w erytrocytach pacjentów z β -talasemią był porównywalny z kontrolą (96%; kontrola stanowi 100%). W krwinkach pacjentów z mikrocytozą wrodzoną inną niż talasemia wynosił 81%. Po indukcji stresu *in vitro* poziom RFT w próbkach z mikrocytozą wrodzoną wzrastał do 95%, a w talasemii β był znacząco niższy niż w kontroli (81%). W krwinkach czerwonych pacjentów z talasemią β obserwowano spadek wiązania przeciwciał do białek CD47, CD55, CD58 i CD59. Nie zmienił się jedynie stopień wiązania przeciwciał do białka CD44. W przypadku erytrocytów pacjentów z mikrocytozą wrodzoną inną niż talasemia obserwowano spadek, wzrost lub brak zmian wiązania przeciwciał w stosunku do kontroli.

Wnioski: Powyższe wyniki mogą wskazywać na obecność w krwinkach czerwonych z talasemią β adaptacyjnych mechanizmów naprawczych, które pozwalają znosić skutki zwiększonego stresu oksydacyjnego. Stres oksydacyjny zaburza strukturę białek, co może mieć związek ze zmniejszoną dostępnością antygenów dla przeciwciał w naszym badaniu i świadczyć o rearanżacjach błony komórkowej we wrodzonych mikrocytozach.

P10. PRZEŁOM HEMOLITYCZNY I BÓLOWY U 18-LETNIEGO PACJENTA Z NIEDOKRWISTOŚCIĄ SIERPOWATOKRWINKOWĄ – OPIS PRZYPADKU

mgr Monika Błocka-Gumowska¹,
dr hab. n. med. Adam Przybyłkowski²,
lek. Katarzyna Celińska-Dzikowska²,
dr Emilia Czyżewska³

¹Laboratorium Centralne, Samodzielny Publiczny Centralny Szpital Kliniczny w Warszawie

²Klinika Gastroenterologii i Chorób Wewnętrznych,
Samodzielny Publiczny Centralny Szpital Kliniczny w Warszawie

Wstęp: Niedokrwistość sierpowatokrwinkowa (SCA) jest dziedziczną chorobą krwi spowodowaną mutacją punktową w genie kodującym łańcuch β hemoglobiny. W wyniku mutacji powstaje hemoglobina S o zmniejszonej zdolności wiązania tlenu, która polimeryzuje, tworząc sztywne struktury deformujące erytrocyty. Choroba charakteryzuje się okresami remisji i zaostrze-

nia przebiegającego w postaci przełomów hemolitycznych oraz przełomów bólowych wynikających z okluzji naczyń krwionośnych przez krwinki sierpowate. Do najczęstszych powikłań SCA należy kamica żółciowa i ostry zespół płucny. Rzadką manifestacją przełomu bólowego jest ostre zapalenie trzustki na tle kamicy dróg żółciowych lub – rzadziej – wynikające z powikłań mikroangiopatycznych i niedokrwienne uszkodzenia narządu.

Cel: Celem pracy jest przedstawienie doświadczeń własnych w postępowaniu z pacjentem z niedokrwistością sierpowatokrwinkową.

Materiał i metody: Opis przypadku.

Wyniki: Pacjent, 18 lat, pochodzenia arabskiego z rozpoznaną w dzieciństwie anemią sierpowatokrwinkową został przyjęty z powodu zażółcenia powłok ciała z towarzyszącymi dolegliwościami bólowymi brzucha i wymiotami. W badaniach laboratoryjnych uwagę zwracała wysoka aktywność amylazy 3406 U/L i lipazy 5535,5 U/L, zwiększona aktywność enzymów wątrobowych. Stężenie bilirubiny całkowitej 18,79 mg/dl, CRP 130,2 mg/l, WBC $21,5 \times 10^3/\mu\text{l}$, RBC $2,9 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hgb 8,7 g/dl. W badaniu USG jamy brzusznej uwidocznił się powiększony wątroby, pogrubiałą ścianę pęcherzyka żółciowego z licznymi, drobnymi złoгами. W badaniu TK jamy brzusznej trzustka powiększona w całości do maks. 35 mm, radiologiczne cechy OZT. Zastosowano intensywne nawodnienie dożylnie, antybiotykoterapię oraz profilaktykę przeciwzakrzepową. Wykonano endoskopową cholangiopankreatografię wsteczną, stwierdzając ubytek kontrastu w środkowym odcinku przewodu żółciowego wspólnego. Wykonano sfinkterotomię i usunięto złoże z dróg żółciowych. Z powodu objawów niedokrwistości przetoczono łącznie 3 j. KKCz, co zapewniło stężenie Hgb 10,4 g/dl. W trakcie hospitalizacji obserwowano duszność i tachykardię oraz wzrost stężenia D-dimeru. W badaniu angio-CT klatki piersiowej uwidocznił się zatorowości płucnej. Zwiększono dawkę heparyny drobnocząsteczkowej. W wyniku zastosowanego leczenia uzyskano znaczną poprawę kliniczną i radiologiczną.

Wnioski: Mnogość objawów klinicznych u pacjentów z SCA stwarza liczne dylematy diagnostyczne i terapeutyczne dla lekarza prowadzącego leczenie.

P11. PORÓWNANIE METOD WYKRYWANIA *BLASTOCYSTIS* SP. U CHORYCH NA CHOROBY ROZROSTOWE UKŁADU KRWIOTWÓRCZEGO

Paweł Kozłowski¹, dr n. med. Anna Waszczuk-Gajda²,
dr n. med. Joanna Drozd-Sokołowska²,
dr n. biol. Agnieszka Pawełczyk³,
dr n. biol. Małgorzata Bednarska³,
dr n. med. Rusłan Sałamantin⁴,
dr n. med. Marta Faryna^{1,5},
prof. dr hab. n. med. Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek²,
prof. dr hab. n. med. Wiesław Wiktor Jędrzejczak²

¹Laboratorium Centralne, Samodzielny Publiczny Centralny Szpital Kliniczny Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Warszawa

²Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

³AmerLab Laboratorium Diagnostyki Zakażeń Pasożytniczych i Odzwierzęcych, Warszawa

⁴Zakład Parazytologii, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego, Warszawa

⁵Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Wydział Nauki o Zdrowiu, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: *Blastocystis* sp. jest pierwotniakiem pasożytującym w jelicie grubym człowieka. Występuje w różnych krajach ze zmienną częstością od 0,5% w Japonii do ponad 60% w Indonezji. W piśmiennictwie spotyka się opinie o nieszkodliwości, jak również doniesienia o jego względnej chorobotwórczości, zwłaszcza u chorych ze znacznym obniżeniem odporności. Uwagę zwracają opisy przypadków chorych na rozrostowe choroby układu krwiotwórczego leczonych chemioterapią i poddanych przeszczepieniu szpiku, u których obecność *Blastocystis* sp. wiązała się z nasilonymi objawami ze strony przewodu pokarmowego, takimi jak biegunka i bóle brzucha, które ustępowały po eradykacji pierwotniaka. Istnieje kilka metod wykrywania *Blastocystis* sp. w kale, różnie ocenianych w piśmiennictwie, dlatego ważne jest opracowanie postępowania zapewniającego możliwie najwyższą czułość i swoistość diagnostyczną.

Cel: Celem pracy jest ocena trzech metod wykrywania *Blastocystis* sp. w kale (preparat bezpośredni, immunofluorescencja bezpośrednia, ELISA) w porównaniu z dwoma metodami ostatecznymi (hodowla, PCR).

Materiał i metody: Do badania włączono 31 próbek kału od 30 pacjentów (17 kobiet, mediana wieku 63 lata; 13 mężczyzn, mediana wieku 49 lat) z rozrostowymi chorobami układu krwiotwórczego, poddawanych chemioterapii, u których wystąpiły biegunka i ból brzucha, oraz jako kontrolę 9 próbek z PZH, w których wyhodowano *Blastocystis* sp. Próbkę kału zbadano na obecność *Blastocystis* sp. metodą preparatu bezpośredniego, immunofluorescencji bezpośredniej oraz ELISA, a wyniki porównano z wynikami uzyskanymi w dwóch metodach ostatecznych: PCR oraz hodowli w podłożu Jonesa z 10% dodatkiem surowicy końskiej.

Wyniki i wnioski: Metodami ostatecznymi stwierdzono obecność *Blastocystis* sp. w 15 próbkach (39%). Zgodność wyników hodowli i PCR uzyskano w 33 próbkach (87%). Na podstawie wyników otrzymanych ocenianymi metodami obliczono ich czułość i swoistość diagnostyczną, które wynosiły odpowiednio: preparat bezpośredni: 50% i 96%, immunofluorescencja: 36% i 96%, ELISA: 64% i 75%. Uzyskanie wyniku ujemnego u chorego ze zwiększonym prawdopodobieństwem zarażenia *Blastocystis* sp. powinno być potwierdzone metodą ostateczną. Wynik dodatni uzyskany metodą preparatu bezpośredniego i immunofluorescencji można uznać za potwierdzający zarażenie i nie wymaga on weryfikacji metodą ostateczną. Ze względu na niezadowalającą czułość i swoistość metody ELISA każdy wynik otrzymany tą metodą powinien zostać zweryfikowany metodą ostateczną.

EPIDEMIOLOGIA W HEMATOLOGII

PRZEWODNICZĄCY:

M. BIELSKA-LASOTA (WARSZAWA),
J. DIDKOWSKA (WARSZAWA)

Doniesienia ustne

CZĘSTOŚĆ GENÓW KIR O ZMIENIONEJ I NORMALNEJ EKSPRESJI W POLSKIEJ POPULACJI ORAZ ICH ZWIĄZEK Z OSTRYMI BIAŁACZKAMI

Renata Mika-Witkowska¹, Marta Rogatko-Koroś¹,
Klaudia Nestorowicz^{1,2}, Sławomir Gwozdowicz¹,
dr Urszula Szlendak¹, Aleksandra Drapała¹,
Elżbieta Graczyk-Pol¹, Marta Zubala¹, Joanna Dziopa¹,
Daria Pawliczak¹, prof. Jacek Nowak¹

¹Zakład Immunogenetyki, Instytut Hematologii
i Transfuzjologii w Warszawie

²Centrum Organizacyjno-Koordynacyjne ds. Transplantacji
Poltransplant, Warszawa

Wstęp: Cząsteczki *killer cell immunoglobulin-like receptor* (KIR) obecne na komórkach NK odgrywają istotną rolę w nadzorze immunologicznym nad nowotworami. Niektóre KIR są kodowane przez zmutowane warianty genów typu 'null', w wyniku czego wykazują zarówno brak ekspresji białek, jak i potencjalny brak oddziaływania receptorów z odpowiednimi ligandami.

Cel: Celem pracy było określenie częstości genów KIR o normalnej i zmienionej ekspresji w polskiej populacji oraz ocena związku tych form z występowaniem ostrych białaczek.

Materiał i metody: W populacji zdrowych osób ($n = 330$), a także u chorych z ostrą białaczką szpikową

(AML, $n = 191$) i ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL, $n = 114$) wykonano genotypowanie KIR wraz z określeniem podtypów o normalnej ekspresji i nie podlegających ekspresji genów 'null'.

Wyniki i wnioski: W populacji kontrolnej geny stanowiące stały zrąb genotypu KIR (2DL4, 3DL2, 3DL3, 3DP1) były powszechne, a pozostałe KIR występowały z określoną częstością genową (2DL1-0.809, 2DL2-0.308, 2DL3-0.670, 2DL5-0.292, 2DP1- 0.809, 2DS1-0.233, 2DS2-0.324, 2DS3-0.166, 2DS4-0.754, 2DS5-0.158, 3DL1-0.773, 3DS1- 0.218). Warianty normalne genów KIR różniły się częstością genową od wariantów null (2DL4 norm-0.478 i del-0.517, 2DS4 norm-0.181 i del-0.584, 3DP1 norm-0.782 i variant-0.165, 2DL5A (z ekspresją)-0.211 i 2DL5B (null)-0.240). W odróżnieniu od wariantów null wykazano silny związek protekcyjny hamującego genu KIR2DL4 norm w AML (53% vs. 73%, OR = 0,43, $p = 0,000045$, 95% CI: 0,29–0,64) oraz ALL (55% vs. 73%, OR = 0,46, $p = 0,0013$, 95% CI: 0,29–0,74). U chorych z ALL podobny protekcyjny wpływ wykazano jedynie dla normalnego wariantu aktywnego genu KIR2DS4 norm (17% vs. 33%, OR = 0,41, $p = 0,0018$, 95% CI: 0,23–0,72) i brak wpływu genu KIR2DS4 del. Wykazane związki pozostały istotne statystycznie również po korekcie metodą Bonferroniego ($p < 0,027$). W omówieniu należy wziąć pod uwagę, że do ligandów cząsteczki KIR2DL4 należą: nieklasyczna cząsteczka HLA klasy I – HLA-G w rozpuszczalnej formie oraz proteoglikan siarczanu heparanu (HSPG), a ligandami KIR2DS4 są niektóre cząsteczki HLA z grup A11, C2 i C1. W funkcjonalnych szlakach metabolicznych obu cząsteczek przeważają szlaki aktywacyjne nad hamowaniem komórek NK. Wykazany związek genów KIR może zatem wskazywać na istotną rolę ekspresji KIR2DL4 i KIR2DS4 oraz ich oddziaływań z odpowiednimi ligandami w nadzorze immunologicznym nad AML i ALL. Nie wykazano protekcyjnej roli wariantów genów niepodlegających ekspresji.

Wsparcie finansowe, grant NCN N N402 351138.

Introduction: Killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) molecules play a key role in cancer immunosurveillance. Some KIRs are encoded by mutated variants or null genes. Their products are truncated thus being potentially unable to engage cognate ligands.

Aim: Our aim was to assess gene frequencies of expressed and null KIR gene variants and their association with acute leukemia.

Material and methods: We performed KIR genotyping in normal Polish population ($n = 330$) and in acute myeloid leukemia (AML, $n = 191$) and acute lymphoblastic leukemia patients (ALL, $n = 114$) including expressed and null gene subtyping.

Results and conclusions: In normal population some framework genes (KIR2DL4, 3DL2, 3DL3, 3DP1) were common and remaining genes occurred with certain gene frequency pattern (2DL1-0.809, 2DL2-0.308,

2DL3-0.670, 2DL5-0.292, 2DP1-0.809, 2DS1-0.233, 2DS2-0.324, 2DS3-0.166, 2DS4-0.754, 2DS5-0.158, 3DL1-0.773, 3DS1-0.218). Null variants of some KIRs were differently distributed from their full length counterparts (2DL4 norm-0.478 and del-0.517, 2DS4 norm-0.181 and del-0.584, 3DP1 norm-0.782 and variant-0.165, 2DL5A expressed-0.211 and 2DL5B null-0.240). Unlike its deleted variant the association study has revealed strong protective role of normally expressed KIR2DL4 norm in AML (53% vs. 73%, OR = 0.43, $p = 0.000045$, 95% CI: 0.29-0.64) and ALL (55% vs. 73%, OR = 0.46, $p = 0.0013$, 95% CI: 0.29-0.74). In ALL similar protective role has been revealed for expressed variant of KIR2DS4 norm gene (17% vs. 33%, OR = 0.41, $p = 0.0018$, 95% CI: 0.23-0.72). These associations have withstand the Bonferroni corrections for 15 KIR gene comparisons ($p < 0.027$). So far, reported ligands for KIR2DL4 are the non-classical HLA class I molecules HLA-G in soluble form, and heparan sulphate proteoglycans (HSPG) and KIR2DS4 ligate preferentially to some HLA class I alleles that belong to A11, C2 and C1 groups. Upon ligation both full length KIRs induce preferentially activating over inhibitory pathways in NK cells. Our results suggest a key functional role of expressed KIR2DL4 and KIR2DS4 in immunosurveillance over AML and ALL upon engagement of appropriate ligands. Null KIR2DL4 and KIR2DS4 genes have no protective role.

Financial support from National Center of Science, grant N N402 351138.

Plakaty

P1. KONSEKWENCJE KLINICZNE NOSICIELSTWA WIELOLEKOOPORNYCH SZCZEPÓW *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* U CHORYCH NA CHOROBY UKŁADU KRWIOTWÓRCZEGO W OKRESIE 2013–2015

Anna Waszczuk-Gajda¹, Joanna Drozd-Sokołowska¹, Grażyna Dulny^{2,3}, Halina Marchel^{2,4}, Marta Wróblewska^{4,5}, Grzegorz Basak¹, Jarosław Biliński¹, Karol Lis¹, Olga Saran⁴, Agata Sułowska⁴, Krzysztof Mądry¹, Patrycja Rusicka¹, prof. Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek¹, prof. Wiesław Wiktor Jędrzejczak¹

¹Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Zespół Kontroli Zakażeń Szpitalnych, Samodzielny Publiczny Centralny Szpital Kliniczny, Warszawa

³Zakład Profilaktyki Zagrożeń Środowiskowych i Alergologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁴Zakład Mikrobiologii, Samodzielny Publiczny Centralny Szpital Kliniczny, Warszawa

⁵Zakład Mikrobiologii Stomatologicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Szczepy *Klebsiella pneumoniae* są istotnym zdarzeniem na oddziałach hematologicznych i onkologicznych, stanowiąc zagrożenie epidemiologiczne oraz przyczyniając się w istotny sposób do zgonów chorych z upośledzoną odpornością. Może być to również powód odroczenia chemioterapii i zmniejszenia jej intensywności, co w konsekwencji wpływa na czas przeżycia chorych. W ciągu ostatniego czasu opracowywane są standardy dotyczące leczenia i eradykacji nosicielstwa.

Cel: Celem pracy była analiza występowania szczepów *K. pneumoniae* wytwarzających karbapenemazy (*carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae*) na oddziale hematoonkologicznym.

Materiał i metody: Analizą objęto 69 pacjentów hospitalizowanych w latach 2013–2015, u których stwierdzono zakażenie lub kolonizację szczepami *K. pneumoniae* wytwarzających karbapenemazy. Zakażenie/kolonizację *K. pneumoniae* NDM-1+ wykryto u 66 osób. U 2 pacjentów stwierdzono występowanie *K. pneumoniae* KPC+ a u 1 chorego *K. pneumoniae* OXA 48+. W analizowanym okresie zdiagnozowano ogółem 69 chorych (44 mężczyzn, wiek: 55 ± 22 (średnia)), 62 lata (mediana)); najczęstsze choroby podstawowe: szpiczak plazmocytowy ($n = 15$), ostra białaczka szpikowa ($n = 15$), przewlekła białaczka limfocytowa ($n = 7$), ostra białaczka limfoblastyczna ($n = 4$), u których stwierdzono zakażenie lub kolonizację szczepami *K. pneumoniae* wytwarzającymi karbapenemazy.

Wyniki: U wszystkich chorych stwierdzono nosicielstwo, z tego u 25 chorych doszło do rozpoznania objawowej infekcji. Stwierdzano następujące zakażenia: zakażenie układu moczowego (15 chorych), posocznica (5 chorych), zapalenie płuc (3 osoby). W analizowanej grupie z nosicielstwem zmarło 57 chorych, w tym zakażenie *K. pneumoniae* mogło przyczynić się do zgonu u 21 chorych. Należy podkreślić, że zakażenie *K. pneumoniae* nakładało się na aktywną chorobę nowotworową u dużego odsetka chorych, część chorych była długotermiowo i często hospitalizowana.

Wnioski: Rozprzestrzenianie się antybiotykoopornych szczepów bakterii jest poważnym problemem epidemiologicznym. Wobec występujących u chorych hematoonkologicznych zaburzeń odporności zagraża to trudną w leczeniu infekcją ogólnoustrojową, obciążoną wysokim ryzykiem zgonu.

P2. RISK OF INFECTIOUS COMPLICATIONS IN ADULT PATIENTS AFTER HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION DEPENDING ON THE SITE OF CENTRAL LINE INSERTION. STUDY OF INFECTIOUS DISEASES WORKING PARTY OF EBMT

dr hab. n. med. Emilian Snarski¹, Jacqui Sringer², Gloria Tridello³, Jennifer Hoek⁴, prof Jan Styczyński⁵,

¹Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska

²NHS Christie Trust, United Kingdom

³EBMT Data Office, Leiden, The NETHERLANDS

⁴Study Coordinator, European Group for Blood and Marrow Transplantation

⁵Department of Pediatric Hematology and Oncology, Collegium Medicum, Nicolaus Copernicus University Torun, Jurasz University Hospital, Bydgoszcz, Poland

Introduction: The current guidelines for prevention of infections do not specify which insertion site should be preferred in HSCT recipients – jugular or subclavian. The data coming from recent studies in general ICU patients show no difference in CLABSI rates between jugular, subclavian and femoral CVCs. However, the HSCT setting differs from general ICU setting – patients after HSCT require CVC for longer periods of time and the infections rates are likely affected by the neutropenia and immunosuppression after HSCT.

Aim: As there is a lack of data that can be used to better guide the choice of insertion site in HSCT recipients we propose a study that will examine the effects of different CVC insertion site on central line associated complications.

Material and methods: Multicentre nonrandomised prospective study. The data of selected patients in set time period will be anonymously collected by centres participating in the study. The invitations to the study will be sent to the EBMT centres in coming months. Only adult allo HSCT patients with non-tunnelled catheters will be included in the study. Analysis endpoints: Primary: Analysis of difference in relative risk of infectious complications in HSCT recipients depending on CVC insertion site: any blood stream infection, confirmed CLABSI, infections at the insertion site. Secondary: Analysis of difference in relative risk of non-infectious complications in HSCT recipients depending on CVC insertion site: any other catheter related complication (at insertion and follow up care).

Results: The study should ideally give answers to questions: 1. What site of CVC insertion leads to lower number of infectious complications in HSCT patients? 2. What site of CVC insertion leads to lower number of non-infectious complications in HSCT patients? 3. What type of dressing leads to lower number of infectious complications in HSCT patients? 4. Time to CVC removal depending on the insertion site.

Conclusions: The proposed study will help to determine more rational approach to use subclavian or jugular veins as preferred CVC insertion site in HSCT patients. We will be very happy to include Polish centers and coauthors in this project.

P3. PROJEKT UTWORZENIA POLSKIEGO REJESTRU ONKO-HEMATOLOGICZNEGO (PROH)

Urszula Wojciechowska¹, Joanna Didkowska¹, Wiesław Wiktor Jędrzejczak², Jan Walewski¹

¹Centrum Onkologii – Instytut im. Marii-Skłodowskiej-Curie, Warszawa

²Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Rejestr nowotworów jest narzędziem do monitorowania występowania chorób nowotworowych w populacji objętej rejestracją. Istnieje kilka rodzajów rejestrów powoływanych w zależności od celu. Najczęściej spotykane są rejestry populacyjne (w tym Krajowy Rejestr Nowotworów) oraz rejestry kliniczne. Rejestry populacyjne skupiają się na populacji, oferując dane do analiz epidemiologicznych. Rejestry kliniczne skupiają się na pacjencie, gromadzą szczegółowe informacje o przebiegu choroby i monitorowaniu jego losów po zakończeniu leczenia.

Cel: Głównym celem PROH będzie gromadzenie danych o pacjentach chorych na nowotwory układu krwiotwórczego i chłonnego. Dane z rejestru będą podstawą oceny skuteczności leczenia tych chorób w zależności od zastosowanej terapii. Pozwolą również na podejmowanie optymalnych decyzji dotyczących rekomendacji terapeutycznych i refundacyjnych.

Materiał i metody: Do rejestru włączeni zostaną wszyscy chorzy na nowotwory tkanki limfatycznej i układu krwiotwórczego kodowane w klasyfikacji ICD-10 zakresem kodów C81-C96 oraz D45-D47. Zakres danych gromadzonych w rejestrze obejmie informacje o stanie pacjenta przed leczeniem; diagnostyce; stadium zaawansowania choroby, metodach leczenia w całym przebiegu choroby oraz wynikach leczenia. Rejestr PROH będzie pierwszym rejestrzem wykorzystującym środowisko techniczne i systemowe Krajowego Rejestru Nowotworów, co pozwoli zoptymalizować koszty budowy i utrzymania rejestru. W Polsce działa ok. 40 ośrodków leczących nowotwory krwi i układu chłonnego, które staną się źródłem danych dla rejestru.

Rejestr będzie działał zgodnie z obowiązującą w Polsce legislacją dotyczącą rejestrów medycznych. Wniosek o powołanie rejestru przez Ministra Zdrowia oczekuje na akceptację. Do pozyskania środków finansowych na wdrożenie oraz utrzymanie rejestru powołane zostanie, zgodnie z ustawą o instytutach badawczych, Centrum Naukowo-Przemysłowe PROH, którego liderem będzie

Centrum Onkologii w Warszawie. Ten rodzaj partnerstwa publiczno-prywatnego po raz pierwszy zostanie wykorzystany do finansowania rejestru medycznego. Udziałem w CNP PROH zainteresowanych jest obecnie sześć największych firm farmaceutycznych.

Wnioski: Planowany Polski Rejestr Onko-Hematologiczny będzie pierwszym w Polsce populacyjnym rejestrem klinicznym. Utworzenie rejestru będzie odpowiedzią na rosnące zapotrzebowanie na coraz bardziej precyzyjne informacje dotyczące nowotworów hematologicznych zarówno ze strony badaczy, organów administracji państwowej, jak i przemysłu.

OSTRE BIAŁACZKI U MŁODZIEŻY I MŁODYCH DOROSŁYCH

PRZEWODNICZĄCY: J. KOWALCZYK (LUBLIN), M. MATYSIAK (WARSZAWA)

Plakaty

P1. ANALIZA REARANŻACJI GENU KMT2A U DZIECI Z ZACHOROWANIEM NA OSTRĄ BIAŁACZKĘ

Natalia Chrzanowska¹, dr Katarzyna Skonieczka¹, dr Barbara Mucha¹, Barbara Grolik¹, Katarzyna Jułga¹, prof. Mariusz Wysocki², prof. Tomasz Szczepański³, prof. Olga Haus¹

¹Katedra i Zakład Genetyki Klinicznej, Wydział Lekarski Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK w Toruniu

²Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii w Bydgoszczy, Wydział Lekarski Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK w Toruniu

³Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii Dziecięcej, Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Wstęp: Białaczki są najczęstszymi nowotworami wieku dziecięcego w Polsce. Blisko 80% przypadków stanowią zachorowania na ALL (*acute lymphoblastic leukemia*) i ok. 20% AML (*acute myeloid leukemia*). Jedną z charakterystycznych aberracji w grupie dzieci z AL (*acute leukemia*), a zwłaszcza niemowląt, są różnego typu rearanżacje genu KMT2A (in. MLL), które stanowią silny czynnik prognostyczny, w większości przypadków niekorzystny.

Cel: Celem pracy była analiza aberracji strukturalnych obejmujących locus genu KMT2A u dzieci z podejrzeniem ostrej białaczki.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiło ogółem 161 dzieci: z podejrzeniem ALL – 138 dzieci, AML – 22 dzieci lub MPAL (ang. *mixed phenotype acute leukemia*) – 1 dziecko. Materiałem do badań były komórki szpiku kostnego lub krwi obwodowej poddane hodowlom prowadzonym i opracowywanym według standardowych procedur. U każdego pacjenta oceniono locus genu KM-

T2A z zastosowaniem techniki FISH przy użyciu sondy specyficznej typu break apart.

Wyniki: W przebadanej grupie dzieci aberracje strukturalne locus KMT2A stwierdzono u 13 dzieci (5 z AML i 8 z ALL), co stanowi 8% dzieci ogółem, w tym ok. 23% z AML i ok. 6% z ALL. Sześcioro dzieci było w wieku do 12 miesięcy życia. Najstarszy pacjent miał 16 lat. W grupie z AML stwierdzono: t(9;11)(p21;q23), t(10;11;?)(p15;q23;?), t(11;17)(q23;q12~q21) i der(19)ins(19;11)(p13;q22q23), a w grupie z ALL całkowitą delecję locus genu KMT2A, częściowe delecje locus genu KMT2A, zarówno tę obejmującą koniec proksymalny, jak i tę dotyczącą końca dystalnego, standardową i złożoną t(4;11)(q21;q23), t(11;19)(q23;p13) i ins(10;11)(p12;q?23q23). W badanej grupie chorych rearanżacje genu KMT2A stwierdzono głównie u niemowląt i małych dzieci, tj. do 5. roku życia. Rearanżacje genu KMT2A wynikały częściej z zaangażowania genu w translokację, głównie wzajemną i zrównoważoną niż w delecję.

Wnioski: W przeprowadzonej analizie potwierdzono znaczenie równoczesnego prowadzenia diagnostyki pacjentów z podejrzeniem AL w oparciu o ocenę kariotypu i technikę FISH. W niektórych przypadkach, jak t(9;11), identyfikacja zmiany byłaby niemożliwa w oparciu jedynie o klasyczne badanie cytogenetyczne. Z kolei w innych, jak np. t(11;17) czy t(4;11), ocena kariotypu wykazała nie tylko partnera translokacyjnego zrearanżowanego genu KMT2A, lecz także złożony mechanizm translokacyjny.

Introduction: Leukemia is the most frequent childhood malignancy in Poland. ALL (acute lymphoblastic leukemia) cases account for nearly 80% while AML (acute myeloid leukemia) cases approximately 20%. One of the most characteristic aberrations observed in children with AL (acute leukemia), especially infants, are rearrangements of KMT2A gene (MLL) which are a strong prognostic factor, mainly unfavorable.

Aim: The aim of the study was analysis of structural aberrations of KMT2A gene locus in children with suspicion of acute leukemia.

Material and methods: The study group consisted of 161 children, with suspicion of: ALL – 138 children, AML – 22 children or MPAL (mixed phenotype acute leukemia) – 1 child. Tested material were cells of bone marrow or peripheral blood, cultured and prepared according to standard procedures. FISH assay with break apart probe for KMT2A locus gene was carried out for every child.

Results: In tested group of children the structural aberrations of KMT2A locus were found in 13 children (5 with AML and 8 with ALL), what accounts for 8% in total, approx. 23% AML and approx. 6% ALL. Six children were aging to 12 months. The oldest patient was 16 years old. Aberrations found in the group of AML were: t(9;11)(p21;q23), t(10;11;?)(p15;q23;?), t(11;17)(q23;q12~q21) and der(19)ins(19;11)(p13;q22q23),

whereas in the group of ALL revealed: complete deletion of KMT2A locus gene, partial deletions of KMT2A locus gene, including proximal as well as terminal end of the gene, classical and complex t(4;11)(q21;q23), t(11;19)(q23;p13) and ins(10;11)(p12;q?23q23). In the study group rearrangements of KMT2A gene were observed mainly in infants and young children aging to 5 years. More often these rearrangements resulted from involvement of gene in translocation, mostly reciprocal and balance, rather than deletion. **Conclusions:** The experiment confirmed significance of simultaneous analysis based on karyotyping and FISH technique. In some cases identification of aberrations like t(9;11) would not be possible by use cytogenetic test only. In other cases e.g. t(11;17) or t(4;11) karyotype analysis not only revealed translocational partner of KMT2A gene, but also complex translocational mechanism, then.

P2. OSTRA BIAŁACZKA LIMFOBLASTYCZNA Z KOEKSPRESJĄ ANTYGENÓW MIELOIDALNYCH ORAZ MASYWNĄ LIMFADENOPATIA JAKO PROBLEM DIAGNOSTYCZNY I TERAPEUTYCZNY – OPIS PRZYPADKU 19-LETNIEGO CHOREGO

Marcin Fejklowicz¹, Maja Twardosz¹, Tomasz Szczepański², Łukasz Sędek³, Sylwia Stąpor⁴, Sebastian Grosicki⁵

¹Oddział Hematologiczny SP ZOZ Zespół Szpitali Miejskich w Chorzowie

²Oddział Hematologii i Onkologii Dziecięcej, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 1 SUM w Katowicach

³Pracownia Immunologii, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 1 SUM w Katowicach

⁴Specjalistyczne Laboratorium Diagnostyki Hematologicznej i Transplantacyjnej, Pracownia Cytogenetyki, Szpital Kliniczny nr 1 we Wrocławiu

⁵Zakład Profilaktyki Chorób Nowotworowych, Wydział Zdrowia Publicznego, SUM w Katowicach

Wstęp: Ostra białaczka o nieokreślonym pochodzeniu liniowym to podtyp ostrej białaczki, w której cechy morfologiczne i immunofenotypowe blastów nie pozwalają na ich jednoznaczne zaklasyfikowanie do linii limfo- czy mieloblastycznej. U pacjentów dorosłych białaczki takie charakteryzują się najczęściej opornością na leczenie, którą częściowo przypisuje się wysokiemu odsetkowi chorych z niekorzystnymi aberracjami cytogenetycznymi. Nie prowadzono dotąd prospektywnych, kontrolowanych prób klinicznych mających na celu ustalenie optymalnego sposobu ich leczenia. Ograniczone dane sugerują, że korzystniejsze jest leczenie według schematów zalecanych dla leczenia chorych na ostrą białaczkę

limfoblastyczną z następowym alloprzeszczerpieniem hematopoetycznych komórek krwiotwórczych.

Cel: Celem pracy jest prezentacja przypadku 19-letniego chorego z nietypową ostrą białaczką z obecnością komórek o dużym stopniu niedojrzałości (CD34+, CD38+, HLA-DR+) oraz koekspresją antygenów charakterystycznych dla linii limfoidalnej (CD7+, CD1a, TdT) i mieloidalnej (MPO, CD117+).

Materiał i metody: Profil fenotypowy blastów nie spełniał również kryteriów rozpoznania ostrej białaczki bifenotypowej według WHO i EGIL. Chory został przyjęty do leczenia w Oddziale Hematologicznym w Chorzowie z bardzo masywną limfadenopatią obwodową, z rozpoznaniem histopatologicznym na podstawie badania węzła chłonnego, jako podejrzenie atypowego genetycznie i immunofenotypowo chłoniaka anaplastycznego. W morfologii krwi obwodowej stwierdzono głęboką pancytopenię. Na podstawie dodatkowych badań szpiku kostnego, gdzie stwierdzono masywną 80% infiltrację komórkami blastycznymi, ostatecznie zdecydowano o rozpoznaniu ostrej białaczki limfoblastycznej 47 XY, +11, bez rearanżacji BCR/ABL, MLL oraz genów kodujących receptory limfocytów T. Pacjent otrzymał leczenie wg programu PALG ALL6, osiągając po chemioterapii indukującej całkowitą remisję hematologiczną. Chemioterapia konsolidująca była powikłana ciężką anemią hemolityczną. Po trzecim cyklu konsolidującym remisję pacjent miał wykonane badanie PET, w którym opisano całkowitą remisję metaboliczną. Po pozytywnej kwalifikacji do leczenia przeszczepieniem komórek krwiotwórczych chory oczekuje na zgodnego dawcę.

Wyniki i wnioski: Po trzecim cyklu konsolidującym remisję pacjent miał wykonane badanie PET, w którym opisano całkowitą remisję metaboliczną. Po pozytywnej kwalifikacji do leczenia przeszczepieniem komórek krwiotwórczych chory oczekuje na zgodnego dawcę.

STANDARYZACJA W CYTOGENETYCE

PRZEWODNICZĄCY:

**B. PIEŃKOWSKA-GRELA (WARSZAWA),
O. HAUS (BYDGOSZCZ)**

Plakaty

P1. ZŁOŻONE ZMIANY KARIOTYPU W MDS JAKO EFEKT CHROMOTHRIPSIS

Katarzyna Kamska, Małgorzata Jakóbczyk, Bogdan Ochrem, Joanna Wąclaw, prof. Aleksander Skotnicki

Szpital Uniwersytecki w Krakowie

Wstęp: Zespoły mielodysplastyczne (MDS) są heterogenną grupą nowotworów charakteryzujących się

nieefektywną hematopoezą, dysplazją komórek hematopoetycznych i obwodowymi cytopeniami. Powtarzające się klonalne zmiany cytogenetyczne, stwierdzane są u około 50% chorych z MDS a ujawniane aberracje ściśle korelują z prognozą i stały się podstawą wyodrębnienia 5 grup cytogenetycznego ryzyka w Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R). Obecność złożonych zmian kariotypu (cx) obejmujących często monosomię chromosomu 5 pary lub delecję 5q, połączona jest z bardzo złym rokowaniem i szybszą transformacją do ostrej białaczki szpikowej. Proces powstawania zmian złożonych wynikający z niestabilności genomu związany jest ze stopniową kumulacją nabywanych aberracji. W ostatnim czasie wykazano alternatywny mechanizm w wyniku, którego wiele zmian powstaje w jednym zdarzeniu zwanym chromotripsis.

Cel: Poniższa praca prezentuje przypadek 57-letniej kobiety z rozpoznaniem MDS z nadmiarem blastów (EB2), bez wcześniejszej historii MDS i dodatkowych chorób, z pancytopenią, zależnością od częstych przetoczeń KKCz (ok. 2–4 j./mies.) i brakiem odpowiedzi na leczenie hipometylujące, oraz szybką, w przeciągu 3 miesięcy, progresją. Obraz histologiczny w chwili diagnozy odpowiadał MDS- EB2 z dysmegakariopoezą sugerującą udział delecji 5q.

Materiał i metody: Badanie cytogenetyczne komórek szpiku kostnego przeprowadzono techniką prążków GTG oraz FISH z zastosowaniem sond: MDS5q-(5q31;q33) & hTERT(5p15) (Kreatech), translokacyjnych BCR/ABL1, RUNX1/RUNX1T1, deleccyjnej TP53 oraz malującej wcp5(Cytocell).

Wyniki i wnioski: Wykazano hiperdiploidalny kariotyp z utratą długiego ramienia chromosomu 5 pary i równoczesnym zwielokrotnieniem kopii ramienia krótkiego 5p oraz przyłączeniami fragmentów chromosomów 21 i 22 pary. W wyniku tych zmian doszło do zwielokrotnienia m.in. kopii genów RUNX1, TERT oraz BCR bez ich rearanżacji. W przebiegu MDS dochodzi do nie zrównoważonych translokacji prowadzących najczęściej do utraty materiału genetycznego lub jego przyłączenia. Prezentowany przypadek potwierdza konieczność poszerzenia analizy złożonych zmian kariotypu z obecnością chromosomów markerowych o analizie techniką FISH z zastosowaniem sond delecyjnych i specyficznych. Pozwoli to na wniesienie nowych informacji w poznawaniu złożoności procesów przebiegających w MDS.

„GORĄCE” TEMATY W HEMATOLOGII (VARIA)

Doniesienia ustne

NIEZGODNOŚĆ SZEROKICH HAPLOTYPÓW MHC WPŁYWA NEGATYWNIE NA PRZEŻYCIE PACJENTÓW I CZĘSTOŚĆ CHOROBY PRZESZCZEP PRZECIW GOSPODARZOWI PO TRANSPLANTACJI KRWIOTWÓRCZYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH OD NIESPOKREWNIONEGO DAWCY

prof. Jacek Nowak¹, Klaudia Nestorowicz¹,
Elżbieta Graczyk-Pol¹, Renata Mika-Witkowska¹,
Marta Rogatko-Koroś¹, Emilia Jaskuła^{2,3},
Sylwia Madej³, Katarzyna Kościńska³,
Agnieszka Tomaszewska¹,
Barbara Nasiłowska-Adamska¹, Andrzej Szczepiński¹,
Kazimierz Hałaburda¹, Jarosław Dybko⁴,
Sebastian Giebel⁵, Małgorzata Barańska⁶,
Jacek Wachowiak⁶, Anna Czyż⁶, Lidia Gil⁶,
Maria Bieniaszewska⁷, Wiesław Jędrzejczak⁸,
Mirosław Markewicz⁹, Krzysztof Kałwak⁴,
Jan Styczyński¹⁰, Katarzyna Drabko¹¹,
Sławomir Gwozdowicz¹, Joanna Dziopa¹,
Urszula Szlendak¹, Agnieszka Witkowska¹,
Krzysztof Warzocha¹, Andrzej Lange^{2,3}

¹Institut Hematologii i Transfuzjologii

²Institut Immunologii i Terapii Doświadczalnej
im. L. Hirszwelda PAN, Wrocław

³Dolnośląskie Centrum Transplantacji Komórkowych
z Krajowym Bankiem Dawców Szpiku, Wrocław

⁴Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław

⁵Centrum Onkologii – Institut im. Marii Skłodowskiej-Curie,
Oddział w Gliwicach

⁶Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

⁷Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

⁸Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

⁹Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice

¹⁰Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Bydgoszczy, Bydgoszcz

¹¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Lublin

Wstęp: Stopień niezgodności HLA pomiędzy biorcą a niespokrewnionym dawcą przeszczepu krwiотwórczych komórek macierzystych (uHSCT) stanowi główną przyczynę groźnych powikłań, jak choroba przeszczep przeciw gospodarzowi (GvHD), oraz zwiększoną śmiertelność pacjentów. Najnowsze badania wykazały zwiększoną częstość niezgodności SNP w genetycznych obszarach leżących w pobliżu niezgodnych loci HLA oraz ewolucyjnie utrwaloną nierównowagę sprzężeń genów MHC.

Cel: Dodatkowe ryzyko może zależeć od różnic genetycznych w zakresie innych polimorfizmów zlokalizowanych w regionie MHC, zorganizowanym w postaci dwóch szerokich haplotypów MHC (Ehp).

Materiał i metody: W latach 2001–2012 wykonano uHSCT u $N = 889$ pacjentów z chorobami proliferacyjnymi. Oceniano kliniczną rolę poziomu niezgodności Ehp. Fazę szerokich haplotypów MHC wyznaczano metodą populacyjną – oprogramowanie PHASE 2.1. Badanie obejmowało porównanie skumulowanych częstości ostrej (a) i przewlekłej (c) GvHD, całkowitego przeżycia (OS) i śmiertelności niezależnej od wznowy (NRM) w podgrupach o identycznym poziomie niezgodności HLA. Ewentualny wpływ nierównomiernego rozkładu różnych zmiennych, jak rozpoznanie, faza choroby itp. ($p < 0,1$) w podgrupach korygowano w wielowariacyjnym modelu Coxa z wsteczną eliminacją.

Wyniki i wnioski: Wraz ze wzrostem poziomu niezgodności Ehp (1 do 2) wykazano istotny wzrost częstości aGvHD w 100 dniu (58% vs 41%) oraz cGvHD po 5 latach od uHSCT (62% vs 37%), pomimo identycznego poziomu niezgodności HLA (9/10). Podobne zależności wykazano także w grupie pacjentów, którzy otrzymali przeszczep od dawcy o wyższej niezgodności HLA (7–8/10) – aGvHD (66% vs 41%); cGvHD (65% vs 49%). W analizie wielowariacyjnej wykazano, że poziom niezgodności Ehp stanowił niezależny czynnik prognostyczny dla aGvHD ($p = 0.0000018$, HR = 2,70, CI 95%: 1,75–4,14), cGvHD ($p = 0.00000085$, HR = 3,28, CI 95%: 2,04–5,25) i rozległej cGvHD ($p = 0.000024$, HR = 5,38, CI 95%: 2,77–10,44). Co istotne, poziom niezgodności HLA był wyeliminowany z powyższych modeli wielowariacyjnych. W grupie z pojedynczą niezgodnością HLA pacjenci z niezgodnością 2 Ehp wykazywali znacznie gorsze OS (45% vs 56%, $p = 0.014$, HR = 2,14, CI 95%: 1,13–4,05) i NRM (40% vs 31%, $p = 0.017$, HR = 3,91, CI 95%: 1,70–8,97) w porównaniu z pacjentami z niezgodnością 1 Ehp. Niezgodność Ehp jest istotnym dodatkowym czynnikiem zwiększającym częstość aGvHD, cGvHD i rozległej cGvHD oraz pogarszającym przeżycie biorców. Należy zdecydowanie unikać dawców z niezgodnością 2 Ehp.

Wsparcie finansowe NCN N N402 351138 i NCBiR N R13 0082 06.

Introduction: Life-threatening risks in unrelated hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) including graft versus host disease (GvHD) and mortality are associated with HLA disparity between donor and recipient. In HLA mismatched pairs increased frequencies of SNP disparities in MHC regions adjacent to mismatched HLA loci were discovered and strong linkage disequilibria across MHC are evolutionary selected.

Aim: The increased risks might be dependent on disparity in not-routinely-tested multiple polymorphisms in genetically dense MHC region, being organized in two extended MHC haplotypes (Ehp).

Material and methods: Patients ($N = 889$) with proliferative diseases received T cell-replete HSCT from 2001 to 2012. We assessed the clinical role of Ehp disparity levels in donor-recipient pairs by the in silico detection of HLA allele phase mismatch using PHASE 2.1.

We compared cumulative incidences of acute (a)GvHD, chronic (c)GvHD, overall survival (OS) and non-relapse mortality (NRM) in patients given HSCT from unrelated donor with 1 or 2 Ehp mismatch, in strata of unique level of HLA mismatch. The group with matched HLA ($N = 607$) was set as reference. Co-variate adjustments were made in multivariate stepwise Cox proportional hazard analysis with backward elimination for those independent variables correlated with outcome measures in univariate models ($p < 0.1$).

Results and conclusions: We found highly significant increment of 100-day aGvHD (58% vs. 41%) and 5-year cGvHD (62% vs. 37%) with increasing Ehp mismatch level, even with the same level of 1 (out of 10) HLA mismatch. Likewise, significantly increased aGvHD (66% vs. 41%) and cGvHD (65% vs. 49%) has been found with increasing Ehp mismatch level when donor-recipient pairs were highly HLA mismatched (7-8/10). In adjusted multivariate models Ehp disparity level remained independent prognostic factor for aGvHD ($p = 0.0000018$, HR = 2.70, CI 95%: 1.75-4.14), cGvHD ($p = 0.00000085$, HR = 3.28, CI 95%: 2.04-5.25), and extended cGvHD ($p = 0.000024$, HR = 5.38, CI 95%: 2.77-10.44) and HLA mismatch level alone has been excluded from these models. Patients with double Ehp disparity had worse 5-year OS (45% vs. 56%, $p = 0.014$, HR = 2.14, CI 95%: 1.13-4.05) and NRM (40% vs. 31%, $p = 0.017$, HR = 3.91, CI 95%: 1.70-8.97) as compared to patients with single Ehp disparity. We conclude that Ehp-linked factors contribute to the high morbidity and mortality in recipients given HLA-mismatched HSCT. Donors with 2 Ehp mismatch should be absolutely avoided.

Supported by NCN grant N N402 351138 and NCBiR grant N R13 0082 06.

DISCONTINUATION OF IMATINIB MAY LEAD TO SUSTAINED REMISSION IN A PROPORTION OF PATIENTS WITH HYPEREOSINOPHILIC SYNDROME HARBOURING THE FIP1L1-PDGFRα TRANSCRIPT – UPDATED RESULTS

prof. Grzegorz Helbig¹, mgr Agnieszka Karolczyk¹, dr Alina Świdarska², dr hab. Marek Hus³, mgr Aleksandra Bartkowska-Chrobok¹

¹Medical School of Silesia, Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Silesian Medical University

²Department of Hematology, Regional Hospital, Zielona Góra, Poland

³Department of Hemato-Oncology and Bone Marrow Transplantation, Medical University, Lublin, Poland

Introduction: A subset of patients with hypereosinophilic syndrome (HES) may harbor an interstitial

deletion in chromosome 4 leading to the creation of the FIP1L1-PDGFR (F/P+) fusion gene which has been found to be highly imatinib (IM)-sensitive. There have been several controlled attempts to stop IM in patients with chronic myeloid leukemia (CML) who had sustained undetectable BCR-ABL for at least 2 years. These results have shown that IM can be discontinued safely in at least some CML patients.

Aim: To evaluate the outcome of patients with F/P-positive HES who have achieved molecular remission and discontinued IM.

Material and methods: A trial of IM cessation in HES harboring F/P transcript has been attempted in 7 patients treated in 3 Polish centers. The FIP1L1-PDGFR fusion transcript was screened by nested RT-polymerase chain reaction (PCR) and monitored every 3-6 months while patient was on IM and every 3 months after IM discontinuation.

Results and conclusions: There have been 7 males at median age at diagnosis of 57 years (28-71 years). Median leukocyte count was $18.9 \times 10^9/l$ (range 13.4-34.8) with median absolute eosinophil count of $10.9 \times 10^9/l$ (range 5.6-19.4). Median eosinophilic infiltration of bone marrow was 47% (range 30-88). Organ involvements were present in 6 studied patients at disease onset. The initial IM dose was 100mg daily in 6 patients whereas 400mg daily was administered for 1. Median time from diagnosis to IM introduction was 5 months (range 0.2-50). All patients achieved complete hematologic (CHR) and molecular remission (CMR) after median of 14 days (range 4-67) and 6 months (range 1-24 months), respectively. Then, IM dose was decreased to 100mg weekly as a maintenance in all patients. Median time from IM initiation and CMR achievement to IM discontinuation was 6.6 years (range 2.8-7.5) and 4.6 years (range 2.6-6.9), respectively. 4 patients relapsed at molecular level after median of 5.6 months off-IM (range 2.0-27.4) whereas 3 subjects remain in CMR after median of 65.9 months (range 38.2-68.5). No difference in median CMR durations was demonstrated between relapsed and non-relapsed patients. Relapse-free survival for 7 patients who discontinued IM was 42% at 2 years. Our results have shown that a proportion of F/P-mutated patients may eventually be cured, but this observation should be confirmed by multi-institutional studies with a larger number of patients.

SAFETY PROFILE OF A SINGLE PEGYLATED ASPARAGINASE (PEG-ASP) DOSE IN REMISSION INDUCTION FOR ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL)

prof. Grzegorz Helbig, dr Anna Armatys,
dr Kinga Boral, dr Anna Kopińska,
dr Krzysztof Woźniczka, dr Martyna Dworaczek,
dr Karolina Chromik, dr Anna Kocięga,
dr Marta Panz-Klapuch, dr Małgorzata Wysocka,
dr Agnieszka Janikowska,
prof. Sławomira Kyrz-Krzemień,
prof. Mirosław Markiewicz

Medical School of Silesia, Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Silesian Medical University

Introduction: The incorporation of pegylated asparaginase (PEG-ASP) into pediatric and adult acute lymphoblastic leukemia (ALL) protocols remains a worldwide therapeutic standard, however the safety profile is a challenge.

Aim: To assess the safety profile of intravenous single dose of PEG-ASP administered during remission induction for ALL patients.

Material and methods: All eligible patients were between 18 and 65 years old and had newly diagnosed B- or T-cell acute lymphoblastic leukemia (ALL). All patients were recruited between 2011-2016 and gave written informed consent before the study entry. Patients received treatment according to protocols adopted by Polish Adult Leukemia Group: ALL6. The treatment stratification was based on patient's age at diagnosis (< 55 years and ≥ 55 years) and the presence of Philadelphia (Ph) chromosome and/or BCR-ABL transcript. According to ALL6 protocol, the Pegylated Escherichia coli-derived L-asparaginase (PEG-ASP) was administered only to patients with undetectable Ph chromosome and/or BCR-ABL. There was no difference in induction protocols between patients with B- and T-cell ALL.

Results and conclusions: Thirty two patients at median age at diagnosis of 32 years (median 19-65) were included in this analysis. Most patients had B-cell lymphoblastic leukemia ($n = 26$; 78%) and 81% of cases were < 55 years at study entry. 75% of patients had leukocyte count $< 30 \times 10^9/l$ at diagnosis. Median follow-up was 14 months (range 0.8-69). Any grade 3/4 adverse events (AEs) after PEG-ASP administration were observed in 24 patients (75%). Most common grade 3/4 AEs were following: fibrinogen decreased (58%), bilirubin increased (31%) and GGTP increased (27%). Clinical manifestations related to PEG-ASP were seen in 9 patients and included: abdominal pain ($n = 6$), thrombosis ($n = 2$), diarrhea ($n = 1$) and pancreatitis ($n = 1$). Median time from PEG-ASP to first symptoms was 7 days (range 1-19). There were 4 (13%) early induction deaths among those receiving PEG-ASP. All deaths were observed in patients ≥ 50 years after me-

dian of 5 days after PEG-ASP (range 1-9). Three out of 4 patients had massive obesity. All expired patients had grade 4 neutropenia and thrombocytopenia at the time of death, however sepsis was not present. Administration of PEG-ASP in induction remission for ALL patients resulted in a significant, but mostly reversible hepatotoxicity. This treatment should be administered with caution for older, obese patients.

clones may suggest that clonal dominance of defective cells in PNH is promoted by spontaneously suppressed apoptosis.

Financial support from Institute of Hematology and Transfusion Medicine, Research Fund 2014-2016.

PAROXYSMAL NOCTURNAL HEMOGLOBINURIA, SPONTANEOUS ANTI-APOPTOTIC SHIFT OF PROTEIN KINASE B (AKT) LEVELS IN CIRCULATING HEMATOPOIETIC STEM/PROGENITOR CELLS OF PNH CLONE

prof. Jacek Nowak, dr Urszula Szlendak, dr Jolanta Woźniak, Beata Krzymieniewska, dr Ewa Mendek-Czajkowska, dr Anna Polak, Justyna Spychalska, Agnieszka Krzywdzińska, dr Ewa Jabłońska, prof. Przemysław Juszczynski

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Introduction: Proliferation and apoptosis of normal hematopoietic stem/progenitor cells (HSC) are tightly regulated so that steady-state kinetics are preserved. In contrast, in different hematological disorders disbalanced hematopoiesis can be explained by abnormal apoptosis. Main intracellular regulatory antiapoptotic enzyme, protein kinase B (Akt) activity is dependent on phosphatidylinositol (PI), that is involved in PNH pathology.

Aim: Our aim was to assess the levels of Akt positivity in normal and defective circulating HSCs as a measure of the balanced anti-apoptotic propensity in PNH.

Material and methods: To determine Akt in peripheral blood derived CD34+ HSCs we adapted a flow cytometry (FC) and phosflow method.

Results and conclusions: In circulating CD34+ cells in patients ($n = 6$) with high PNH clone in granulocytes (FLAER neg. > 95%) and no signs of aplastic anemia the level of Akt+ cells was significantly increased, as compared with normal controls ($n = 7$) ($50.1\% \pm 12.9\%$ vs. $28.7\% \pm 6.1\%$, OR = 2.50; $p < 0.000001$, 95% CI: 1.83-3.42). Moreover, in PNH patients, circulating HSCs of PNH clones (CD34+, CD59-) expressed higher levels of Akt than normal HSC (CD34+, CD59+) clones ($58.0\% \pm 19.0\%$ vs. $46.2\% \pm 12.5\%$, OR = 1.75; $p < 0.05$, 95% CI: 1.28-2.40). Our results have shown that the regulatory status of apoptosis in hematopoietic stem/progenitor cells can be monitored in peripheral blood using relatively simple FC/phosflow method, avoiding bone marrow biopsy. Similar to leukemia stem cells, normal HSCs spontaneously express high levels of intracellular antiapoptotic regulator, Akt. Increased Akt in HSCs of PNH

IDENTYFIKACJA PODŁOŻA GENETYCZNEGO OSÓB LAN-UJEMNYCH

dr n. biol. Agnieszka Orzińska¹, Katarzyna Guz¹, Sylwia Purchla-Szepiolo¹, Joanna Skulimowska¹, Monika Pelc-Kłopotowska¹, Hanna Benkowska², Grażyna Zająchkowska³, Hanna Radwan-Wieczorek³, Monika Kacprzak⁴, Joanna Skowrońska⁵, Małgorzata Lewicka⁶, Anna Walaszczyk⁷, Ewa Brojer¹

¹Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Bydgoszczy

³Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Lublinie

⁴Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Łodzi

⁵Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Katowicach

⁶Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Poznaniu

⁷Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Warszawie

Wstęp: Chorzy, którzy ulegli immunizacji antygenami erytrocytów o wysokiej częstotliwości występowania, muszą otrzymywać krew od dawców bez tego antygeny. Ich częstość w populacji jest niska, więc dobór krwi dla takich chorych jest wielkim wyzwaniem. Próbkę krwi takich dawców są też niezbędne do ustalania swoistości przeciwciał u innych chorych. Poszukiwanie dawcy bez antygeny powszechnie występującego („krew rzadkiej grupy”) za pomocą metod serologicznych może być stosowane w ograniczonym zakresie ze względu na brak komercyjnie dostępnych odczynników. Do badań stosuje się surowicę chorego, której objętość jest ograniczona. Metody molekularne pozwalają na identyfikację dawców o rzadkiej grupie krwi, o ile znane jest podłoże molekularne obecności danego antygeny. Ostatnio zidentyfikowano szereg mutacji w genie ABCB6 odpowiedzialnych za brak powszechnego antygeny Lan z układu Lan (ISBT 033).

Cel: Identyfikacja mutacji w genie ABCB6 u pacjentów polskiego pochodzenia z wykrytymi przeciwciałami anty-Lan i u ich rodzin.

Materiał i metody: DNA izolowano metodą manualną (NucleoSpin Blood Kit, Marcheney Nagle GmbH) z pełnej krwi od 8 pacjentów Lan(-) z przeciwciałami anty-Lan i trojga dzieci jednego z pacjentów oraz od dawców panelowych IHiT Lan (+). Technika real-time PCR amplifikowano 3 fragmenty genu ABCB6 zawie-

rające najczęściej spotykane w rasie kaukaskiej mutacje typu null (c.1867delins, c.1942C>T, c.2256+2T>G), stosując bufor SYBRGreen i aparat LCII480 (Roche). Przeprowadzono sekwencjonowanie eksomowe genu ABCB6 na aparacie ABIPrism 3130 (ThermoFisher).

Wyniki i wnioski: Technika real-time PCR w badanej grupie nie wykryła żadnej z trzech mutacji typu null (c.1867delins, c.1942C>T, c.2256+2T>G). Metodą sekwencjonowania u 7 pacjentów z przeciwciałami anty-Lan wykryto obecność allelu ABCB6*01N.01.01 (c.574C>T) w homozygotycznym układzie, a u trójki dzieci jednego z pacjentów w układzie heterozygotycznym. U ósmego pacjenta zidentyfikowano heterozygotyczne zmiany 827G>A w eksonie 3 i 1762G>A w eksonie 12 w połączeniu z heterozygotyczną nieopisywaną dotąd w literaturze mutacją (duplikację 25- nukleotydową) w eksonie 7 genu ABCB6. Polimorfizm 574C>T w genie ABCB6 jest najczęstszym podłożem braku anty-genu Lan u osób polskiego pochodzenia. Badania przesiewowe dawców w kierunku oznaczenia obecności tej mutacji metodą genotypowania pozwolą na identyfikację dawców o rzadkiej grupie krwi Lan-ujemnej. Wykryta nie opisywana dotąd mutacja wymaga dalszych badań.

ANALYSIS OF THE PD-1/PD-L1 AXIS POINTS TO ASSOCIATION OF UNFAVORABLE RECURRENT MUTATIONS WITH PD-L1 EXPRESSION IN AML

Joanna Zaleska¹, dr Małgorzata Zajac¹, Anna Siwiec², Olga Jankowska-Lecka³, Radosław Mlak⁴, Marzanna Ciesielka⁵, Tomasz Gromek³, Bożena Sokołowska³, Norbert Grząsko⁶, Maria Soroka-Wojtaszko³, Aneta Szudy-Szczyrek³, Maria Majdan², Marek Hus³, Krzysztof Giannopoulos⁶

¹Department of Experimental Hematooncology, Medical University of Lublin

²Department of Rheumatology and Connective Tissue Diseases, Medical University of Lublin

³Department of Hematooncology and Bone Marrow Transplantation Unit, Medical University of Lublin

⁴Department of Human Physiology, Medical University of Lublin

⁵Department of Forensic Medicine, Medical University of Lublin

⁶Department of Hematology, St. John's Cancer Center

Introduction: Programmed death ligand-1 (PD-L1) is regulated through miR-34a molecules in AML patients. Moreover, Cortez et al. for the first time identified novel, complete mechanism of PD-L1 regulation by p53 via miR-34a in non-small cell lung cancer.

Aim: We performed analyses of PDCD1 (PD-1), CD274 (PD-L1), TP53 and miR-34a expression in AML and MDS patients.

Material and methods: We performed analysis of TP53, CD274 and miR-34a expression in 197 AML patients available from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. We assessed mRNA expression of PDCD1 in independent cohort of 54 AML, 62 MDS and 8 s-AML samples using qRT-PCR method. For miRNA analysis, CD33+ cells from 29 AML patients were isolated and miR-34a expression was analysed. We also characterized SNP for PDCD1 that demonstrate relevant associations with a higher risk of developing autoimmune diseases: PD-1.1, PD-1.3, PD-1.5, PD-1.6, PD-1.7, PD-1.9.

Results: We observed significant differences in PDCD1 expression in groups of 54 AML, 62 MDS, 8 s-AML patients compared to HVs. TCGA data analysis showed that CD274 expression was elevated in group with TP53 mutations compared to unmutated TP53 group. We found negative correlation of TP53 and miR-34a expression with CD274 expression. We have not found any differences in CD274 expression between groups with or without following mutations: IDH1, TET2, RUNX1, NRAS, CEBPA, PTPN11, KIT, KRAS, FLT3, DNMT3, NPM1 and IDH2. Patients with more than 4 recurrent mutations had higher expression of CD274 compared to group of patients with 0-3 recurrent mutations. We also found that patients with > 14 of all mutations had elevated expression of CD274 compared to group 0-13 mutations. We observed differences in OS in AML in case of presence of certain genotypes of PD-1.1.6. Genotype AA was associated with higher risk of shorter OS compared to the rest of the genotypes.

Conclusions: Our analyses indicate that p53 might specifically modulate the tumor immune response by regulating PD-L1 via miR-34a. We found that high CD274 expression is associated with the higher numbers of recurrent and all mutations in AML patients. We found differences in PDCD1 expression in AML patients compared to HVs that might indicate deregulation of a signal transduction through the PD-1/PD-L1 axis. While our SNP analysis suggested a prognostic impact of PD-1.6 polymorphism, further studies are warranted to evaluate the impact of the PD-1/PD-L1 axis in AML.

This work was supported by National Centre for Science Grant HARMONIA (UMO-2013/10/M/NZ5/00313).

PIERWOTNE I WTÓRNE CHŁONIAKI OCZODOŁU – 155 PRZYPADKÓW – RETROSPEKTYWNA ANALIZA POLSKIEJ GRUPY BADAWCZEJ CHŁONIAKÓW W LATACH 2000–2013

dr Wojciech Spychałowicz¹, dr Agnieszka Giza²,
dr Wanda Knopińska-Postuszny³,
dr Ewa Kozik-Paszkiewicz⁴, prof. Wojciech Jurczak²,
dr Olga Dobrzańska⁵, dr Andrzej Balcerzak⁶,
dr Daria Zimowska-Curyło², prof. Jan Maciej Zaucha⁷,
prof. Tomasz Wróbel⁵, prof. Jerzy Wojnar¹,
dr hab. Sławomir Blamek⁸

¹Klinika Chorób Wewnętrznych i Chemioterapii Onkologicznej, Katowice

²Klinika Hematologii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków

³Oddział Hematologii, SP ZOZ MSW z Warmińsko-Mazurskim Centrum Onkologii, Olsztyn

⁴Klinika Nowotworów Układu Chłonnego, Centrum Onkologii, Warszawa

⁵Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji, Uniwersytet Medyczny, Wrocław

⁶Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny, Poznań

⁷Oddział Onkologii Klinicznej, Szpital Morski, Gdynia, Polska

⁸Centrum Onkologii, Oddział Gliwice

Wstęp: Lokalizacja chłoniaka w oczodole wg piśmiennictwa stanowi 50% wszystkich guzów oczodołu, 1% wszystkich chłoniaków i aż 10% chłoniaków pozawęzłowych. Ta liczba ma tendencję wzrostową. W Polsce problem dotychczas był rozpoznany na poziomie doniesień z pojedynczych ośrodków.

Cel: Ośiem ośrodków działające w ramach Polskiej Grupy Badawczej Chłoniaków (PLRG) postanowiło dokonać retrospektywnej rejestracji chłoniaków oczodołu za okres lat 2000–2013, zarówno wtórnych, jak i pierwotnych (pozawęzłowych), w celu pozyskania danych epidemiologicznych oraz oceny sposobów postępowania diagnostycznego i terapeutycznego.

Materiał i metody: Stworzono bazę danych obejmującą poza danymi demograficznymi, diagnozą histopatologiczną, terapią: zabiegową/radioterapią/immunoterapią + chemioterapią/antybiotykoterapią, odpowiedź na leczenie oraz dalszej obserwacji uwzględniającej istotne klinicznie sytuacje. W rejestrze uwzględniono 155 chorych, w tym K 102 (65,8%), a M 53 (34,2%). Chłoniaki pierwotne (pozawęzłowe) 98 (63,2%), a wtórne (uogólnione) 57 (36,8%). Histopatologicznie (HP): MALT 69 (44,5%), DLBCL 49 (31,6%), MCL 13 (8,4%), inne B-komórkowe 15 (9,7%), T-komórkowe 9 (5,8%).

Wyniki i wnioski: 1. Wtórne CO są rzadsze niż pierwotne. 2. Pierwotne CMALTO są najczęstsze stanowiły one 65 przypadków z 69 (94,0%), a sposób ich leczenia w polskich ośrodkach był bardzo zróżnicowany, zwłaszcza w odniesieniu do prowadzonej radioterapii. Próby antybiotykoterapii są wyjątkowo rzadkie. Co do ORR, porównując radioterapię z immunochemioterapią, nie

wykazano NS, podobnie 3-letni PFS 91% v.95% był NS, zaśmą z koniecznością leczenia zabiegowego CMALTO wystąpiła u 29% u pacjentów poddanych radioterapii w okresie 30 miesięcy od jej zakończenia. 3. Pierwotne CDLBCL są drugim co do częstości podtypem HP, terapia R-CHOP była postępowaniem z wyboru w 92% przypadków zarówno pierwotnych, jak i wtórnych CDLBCL >> ORR zajęcia pierwotnego i wtórnego CDLBCL 91% vs. 81% był NS, ale PFS 3 letni odpowiednio 79% vs. 54% $p = 0,031$, tylko w 1 przypadku pierwotnego CDLBCL doszło do zajęcia CNS, oftalmopatia tarczycowa (choroba Gravesa-Basedowa, choroba Hashimoto) poprzedza rozwój pierwotnego CDLBCL w 27%.

ATYPOWA PRZEWLEKŁA BIAŁACZKA SZPIKOWA – ANALIZA WIELOOŚRODKOWA POLSKIEJ GRUPY DS. LECZENIA BIAŁACZEK U DOROSŁYCH (PALG)

dr n. med. Joanna Drozd-Sokołowska¹,
dr Krzysztof Mądry¹, dr Anna Waszczuk-Gajda¹,
dr hab. Przemysław Bieček², dr Paweł Szwedyk³,
dr Katarzyna Budziszewska⁴, dr Magdalena Rażny³,
dr Magdalena Dutka⁵, dr Agata Obara⁶,
dr Ewa Wasilewska⁷, prof. Krzysztof Lewandowski⁸,
dr Agnieszka Piekarska⁵, dr Grażyna Bober⁹,
dr Helena Krzemień⁹, dr hab. Beata Stella-Hołowiecka⁹,
dr hab. Katarzyna Kapelko-Słowik¹⁰,
dr Waldemar Sawicki¹¹,
dr Małgorzata Paszkowska-Kowalewska¹,
lek. Rafał Machowicz¹,
prof. Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek¹

¹Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Wydział Matematyki i Nauk Informacyjnych, Politechnika Warszawska, Warszawa

³Oddział Hematologii i Chorób Wewnętrznych, Szpital Specjalistyczny im. Ludwika Rydygiera, Kraków

⁴Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

⁵Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

⁶Klinika Hematologii, Świętokrzyskie Centrum Onkologii, Kielce

⁷Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok

⁸Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

⁹Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice

¹⁰Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

¹¹Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowy Instytut Medyczny, Centralny Szpital Kliniczny MON, Warszawa

Wstęp: Atypowa przewlekła białaczka szpikowa (aCML) jest bardzo rzadkim nowotworem mielodysplastyczno-mieloproliferacyjnym. Dane na temat tej jed-

nostki chorobowej są bardzo skąpe i pochodzą z okresów, w którym obowiązywały różne kryteria rozpoznania.

Cel: Charakterystyka chorych i ocena rokowania chorych na aCML rozpoznawaną zgodnie z kryteriami WHO 2008 (tożsamymi z kryteriami z 2016 roku) w ośrodkach PALG.

Materiał i metody: Analizą retrospektywną objęto wstępnie 45 chorych, z czego do ostatecznej analizy włączono zaledwie 18 chorych, 13 mężczyzn, spełniających kryteria rozpoznania aCML. U pozostałych chorych ostatecznie rozpoznano nowotwór mielodysplastyczny-mieloproliferacyjny niesklasyfikowany lub przewlekłą białaczkę mielomonocytową.

Wyniki: Mediana wieku w grupie aCML wynosiła 65 lat (40–81). U 12 chorych stwierdzano organomegalię. Parametry krwi obwodowej w momencie rozpoznania przedstawiały się następująco: WBC 97 tys./ μ L (23,8–342), Hgb 8,6 g/dL (3,9–14,9), PLT 66 tys./ μ L (34–833). Odsetek niedojrzałych progenitorów we krwi obwodowej wynosił 27,5% (12–72), odsetek blastów 2% (0–19) we krwi obwodowej i 3,6% (1–19) w szpiku. W momencie rozpoznania 12 (67%) chorych było zależnych od przetoczeń koncentratu krwinek czerwonych. Chorzy byli leczeni głównie cytoredukcyjnie (hydroksymocznik – 18, merkaptopuryna – 3, interferon – 1). Dwóch chorych zostało poddanych przeszczepieniu allogenicznym komórek krwiotwórczych. Mediana przeżycia całkowitego w grupie wszystkich chorych na aCML wyniosła 14,1 miesiąca (95% CI: 7,2 – Inf). Roczne prawdopodobieństwo transformacji do AML wyniosło 12,5% (95% CI: 0 – 29,6%). Wśród przyczyn zgonu dominowały przyczyny niezwiązane z transformacją do AML.

Wnioski: Prawidłowe ustalenie rozpoznania aCML jest bardzo trudne; często rozpoznawane są inne nowotwory mielodysplastyczno-mieloproliferacyjne. Rokowanie chorych na aCML jest złe, z krótkim oczekiwanym czasem przeżycia. Prawdopodobieństwo transformacji do AML jest relatywnie niskie.

IDH2 MUTATIONS IN PATIENTS WITH NORMAL-KARYOTYPE AML PREDICT FAVORABLE RESPONSES TO DAC INDUCTION THERAPY: POSSIBLE ROLE OF DEMETHYLATING ACTIVITY OF CLADRIBINE

dr Marta Libura¹, dr Emilia Białopiotrowicz², prof. Sebastian Giebel³, prof. Agnieszka Wierzbowska⁴, dr hab. n. med. Beata Piątkowska-Jakubas⁵, dr Marta Pawelczyk¹, dr Patryk Górniak², dr Katarzyna Borg², dr Izabella Florek⁵, dr Karolina Matiakowska⁶, dr Bożena Jazwiec⁷, dr Iwona Solarska², dr Magdalena Zawada⁵, dr Sylwia Czekalska⁵, dr Zoriana Salamanczuk⁸, dr Karolina Karabin¹, dr Monika Paluszewska¹, dr Małgorzata Calbecka⁹, dr Justyna Gajkowska-Kulik⁹, dr Grażyna Semenczuk¹⁰, dr Justyna Rybka⁷, dr Anna Ejduk², dr hab. n. med. Dariusz Kata¹¹, dr hab. n. med. Sebastian Grosicki¹², prof. Tadeusz Robak⁴, prof. Sławomira Kyrz-Krzemień¹¹, dr Agata Kowalczyk¹³, dr Katarzyna Piwocka¹³, prof. Krzysztof Warzocha², prof. Kazimierz Kuliczowski⁷, prof. Aleksander Skotnicki⁵, dr Magdalena Wojtas², mgr Elżbieta Chmarzyńska¹⁴, prof. Przemysław Juszczynski², prof. Wiesław Wiktor Jędrzejczak¹, prof. Jerzy Hołowiecki³, prof. Olga Haus^{6,7}

¹SPCSK WUM w Warszawie

²IHIT w Warszawie

³Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology w Gliwicach

⁴Medyczny Uniwersytet w Łodzi

⁵CMUJ w Krakowie

⁶Wydział Lekarski Collegium Medicum w Bydgoszczy

⁷Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

⁸Hôpitaux Universitaires de Genève w Genewie

⁹Miejski Szpital im. Mikołaja Kopernika w Toruniu

¹⁰Szpital Uniwersytecki im. Bizuela w Bydgoszczy

¹¹Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

¹²Zespół Szpitali Miejskich w Chorzowie

¹³Nencki Institute w Warszawie

¹⁴WUM w Warszawie

Introduction: IDH1/2 mutations are present in 14-30% of NK-AML. Their prognostic significance remains still controversial.

Aim: We analyzed retrospectively outcome of IDH1/2+ patients in total NK-AML population and subgroups according to NPM1/FLT3 genotype. Furthermore, we evaluated effect of induction protocols on outcome of IDH1/2+ patients.

Material and methods: 444 NK-AML patients were either enrolled in clinical trials or treated with the same protocols outside prospective studies: 216 patients with DA (daunorubicine+cytarabine), 204 with DAC (DA+2CdA) and 24 with DAF (DA+fludarabine).

Results: IDH2 mutations were independent favorable prognostic factor for overall survival (OS) in total NK-AML ($p = 0.03$) after censoring observations at time of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHSCT), while IDH1 mutations were prognostic marker for reduced OS in high risk NK AML only (FLT3 internal tandem duplication positive and/or NPM1 wild type $p = 0.04$). Interestingly, prognostic significance of IDH2 mutations depended on induction protocol: 4 years OS was markedly increased for IDH2+ patients (55%) when compared to IDH2- patients (30%) in DAC treated arm ($p = 0.0056$), while no difference in OS was observed for patients treated with DA protocol (19% for IDH2+ vs. 23% for IDH2-AML; $p = 0.23$) after censoring observations at alloHSCT. In multivariate analysis, DAC independently predicted longer survival for IDH2+ patients when observations were censored at alloHSCT ($p = 0.026$). Such an effect could be demonstrated neither for IDH1+ nor IDH1/2- NK-AML. We next explored the possible biological mechanisms underlying these clinical observations. Mutations in IDH lead to production of 2-hydroxyglutarate (2HG), which leads DNA hypermethylation. Since 2CdA exhibits DNA-demethylating activity, we hypothesized that it would restore baseline DNA methylation levels in cells with IDH2 mutations. To test this possibility, we treated IDH1/2-wt HEL AML cells with cell-permeable 2HG in the presence/absence of 2-CdA and found that 2CdA completely abolished 2HG-induced hypermethylation. In line with these results, AML cells with IDH2-R140Q mutation exhibited markedly increased DNA methylation, which was restored to baseline levels upon treatment with 2CdA.

Conclusions: Our data suggest that DAC induction protocol might produce better outcome of IDH2+ NK-AML patients than DA protocol. The underlying mechanism of this important clinical outcome likely involves blocking DNA hypermethylation, induced by IDH2 mutations, by 2CdA.

Część III

INDEKS NAZWISK PIERWSZYCH AUTORÓW STRESZCZEŃ

Adamczewska-Wawrzynowicz Katarzyna 146
 Adamiak Mateusz 195
 Adamowicz-Salach Anna 201
 Ahlen Maria Therese 33
 Antoniewicz-Papis Jolanta 92

Baran Beata 179, 180
 Barchnicka Agnieszka 79, 90
 Barnik Krzysztof 161
 Bartoszevska-Kubiak Alicja 111
 Basta Lidia 184
 Bąk Aneta 56
 Benjamin Richard J. 9
 Białopiotrowicz Emilia 102, 126
 Bielska Marta 98
 Bienias Joanna 164
 Bieniaszewska Maria 109
 Błocka-Gumowska Monika 207
 Bodzenta Ewa 98
 Bogucka-Fedorczuk Aleksandra 157
 Bojarska Ewa 183
 Bojarska-Junak Agnieszka 46
 Boruckowski Dariusz 153
 Buczma Anna 64
 Bujno Magdalena 134
 Bukowska Alicja 163, 191
 Burdacki Adrian 133
 Bykowska Ksenia 171

Ceglarek Bernadeta 17, 19, 35, 172, 175
 Charliński Grzegorz 77, 78, 84
 Chojnacki Tomasz 103
 Chromik Karolina 156
 Chrzanowska Natalia 212
 Chyżyński Bartosz 54
 Czyż Anna 86

Dawidowska Małgorzata 138
 Deręgowska Anna 24
 Drozd-Sokołowska Joanna 49, 76, 99, 219
 Dutka Magdalena 162
 Dybko Jarosław 150
 Dziatkiewicz Paulina 161
 Dziemiańczuk Mateusz 48, 167

Fabijańska-Mitek Jadwiga 8, 125
 Farhan Roiya 196
 Fejklowicz Marcin 213
 Forssberg Moa 100

Gajda Sławomir 172
 Gajewska Małgorzata 147
 Gałuszka Wioletta 137
 Gierszon Agnieszka 37
 Gil Lidia 194
 Gniot Michał 39
 Gołos Aleksandra 85
 Górka Michał 36, 54

Górska Magdalena 170
 Grosicki Sebastian 61, 72
 Guz Katarzyna 9, 91, 95, 123
 Gwozdowicz Sławomir 155
 Gwozdowska Adela 23

Hallek Michael 3
 Helbig Grzegorz 152, 215, 216

Iskierka-Jażdżewska Elżbieta 43
 Iwaniuk Diana 88

Jabłońska Ewa 101, 102
 Jarosz Paweł 28
 Jaśkowiec Anna 53
 Juszczyński Przemysław 5

Kaczmarek Radosław 114, 120
 Kalińska Aleksandra 189
 Kamiński Artur 11
 Kämpe Björkvall Cecilia 129, 204
 Kamska Katarzyna 213
 Karabin Karolina 149
 Karakulska-Prystupik Ewa 62, 156
 Karp Marta 45
 Kata Dariusz 132
 Kawa Miłosz 29
 Kledzik Kamilla 186
 Klimczak-Jajor Edyta 205
 Kocięga Anna 159
 Kopacz Aneta 187
 Kopeć Izabella 95
 Koperska-Grzyb Iwona 193
 Kopińska A. 89, 90
 Korpysz Maciej 69
 Koza Katarzyna 203, 207
 Kozieł Jadwiga 38
 Kozłowski Paweł 208
 Kraj Maria 69, 70
 Krasowska-Kwiecień Aleksandra 198
 Kriegler Marek 179
 Król Dorota 94
 Kubiak Agnieszka 158
 Kubicka-Russel Dorota 188
 Kubis Jolanta 183
 Kulikowska Anna 142
 Kwiatkowska-Pamuła Anna 197

Lasota Małgorzata 55
 Lejman Monika 12
 Lewandowski Krzysztof 108
 Lewicka Barbara 67, 70
 Libura Marta 60, 220
 Litwińska Zofia 40
 Lubarski Karol 147

Łaguna Paweł 181
 Łojko-Dankowska Anna 197

Łoniewska Adrianna 202
 Łopacz Patrycja 38
 Łuczowska Karolina 80, 81

Machnicki Marcin 23
 Machowicz Rafał 32, 131
 Madej Łukasz 28
 Madzio Joanna 139
 Małarska Aleksandra 189
 Małeckie Piotr 199
 Małek Magdalena 57, 112
 Marciniak-Bielak Dioniza 116
 Markiewicz Mirosław 105
 Matakowska Karolina 58
 Mazur-Stańsko A. 97
 Mądry Krzysztof 192
 McCullough Jeffrey 10
 Melisz Aleksandra 128
 Mendrek Włodzimierz 151
 Mess Eleonora 41, 79, 80, 145
 Miara Adrian 190
 Michalewska Bogumiła 118
 Mika-Witkowska Renata 209
 Mikulski Damian 166
 Misiak Andrzej 176, 178
 Misiaszek Aleksandra 201
 Möller Mattias 7

Nestorowicz Klaudia 154, 159
 Nowak Jacek 214, 217
 Nowicki Mateusz 160

Odnoczek Edyta 182
 Orzińska Agnieszka 113, 217
 Osmańska Katarzyna 111

Palmblad Jan 4
 Pastorczak Agata 143
 Paszkiewicz-Kozik Ewa 129
 Pawelczyk Marta 58
 Pawelec Katarzyna 27, 140
 Pawelec-Marzec Lucyna 155
 Pelc Karolina 186
 Pelc-Kłopotowska Monika 117, 118
 Pędziwiatr Daniel 168
 Pępek Monika 26
 Pielacinski Konrad 173
 Pieńkowska-Grela Barbara 16
 Pobudejska-Pieniążek Aneta 142
 Pogłód Ryszard 91
 Polak Anna 63, 166
 Popek Sylwia 47
 Prejzner Witold 109, 112
 Pruszczyk Katarzyna 93
 Puła Anna 126
 Puła Bartosz 6, 42, 51

Radomska Karolina 64

Ratajczak Błażej 25
 Richert-Przygońska Monika 200
 Romaniuk Wioletta 75
 Romejko-Jarosińska Joanna 104
 Rosiek Aleksandra 136
 Rudowska Ewa 185
 Rupa-Matysek Joanna 19
 Rusicka Patrycja 30

 Salomon-Perzyński Aleksander 82
 Sikorska Anna Jolanta 18, 20, 21, 22, 177
 Skotnicki Aleksander 6, 7
 Skrzyński Wiesław 4
 Skulimowska Joanna 200
 Smalisz-Skrzypczyk Katarzyna 149
 Snarski Emilian 71, 211
 Sobas Marta 107
 Sobczyk-Kruszelnicka Małgorzata 63, 124, 130
 Sokołowska Bożena 110, 174, 178, 192
 Soroka-Wojtaszko Maria 194
 Spychalska Justyna 133
 Spychałowicz Wojciech 219
 Spyra Zofia 57
 Stanek Marta 136
 Stelmach Piotr 44
 Stępień Katarzyna 203
 Storry Jill R. 8
 Strażnikiewicz Barbara 135
 Styka Borys 146
 Sulimiera Michalak Sylwia 206
 Sulkowska Ewa 182, 187
 Sułek Kazimierz 5, 11
 Sumskiene Egle 31, 34
 Szarawarska Marta 55
 Szarzyńska-Zawadzka Bronisława 141
 Szczepanek Dariusz 75
 Szczepanik Andrzej B. 169
 Szczygieł Justyna 65
 Szeląg Małgorzata 185
 Szudy-Szczyrek Aneta 72, 73, 113
 Szulakowska Alicja 190
 Szwedek Paweł 105
 Szymańska Agata 46
 Szymczyk Agnieszka 50, 52
 Szymczyk-Nużka Małgorzata 96, 135

Taszner Michał 100
 Teodorczyk-Winnicka Aleksandra 115, 124
 Tomaszewska Agnieszka 126, 165
 Torosian Tigran 152
 Tsyapka Orest 74
 Tyczyńska Agata 83

Ulińska Edyta 137

Vyas Piyush 35
 Vyhovska Olha 47

Walenciak Justyna 140
Walicka Magdalena 167
Wasilewska Ewa 26, 29, 59
Waszczuk-Gajda Anna 66, 68, 210
Wąsik-Szczepanek Ewa 50
Wiklińska Agnieszka 121, 122
Wojciechowska Beata 117
Wojciechowska Urszula 211
Wojtyra Patrycja 148
Woszczyk Dariusz 76
Woźniak Jolanta 53
Wpasek Ewa 17
Wziątek Agnieszka 88

Yazer Mark H. 10

Zajac Małgorzata 61
Zajac-Spychała Olga 40, 144
Zaleska Joanna 43, 218
Zaucha Jan Maciej 85
Ziółkowska Ewelina 127
Zmorzyński Szymon 73

Żebrowska Agnieszka 119

