

W pracy przedstawiono 9-letnie doświadczenia gdańskiego ośrodka przeszczepiania krwiotwórczych komórek macierzystych u chorych z przewlekłą białaczką szpikową. Schorzenie to było wskazaniem do przeszczepienia u ponad 50 proc. chorych poddanych transplantacji. Przedstawiono sposoby pozyskiwania komórek do przeszczepu z krwi obwodowej i szpiku kostnego oraz uzyskiwany materiał przeszczepowy. Analizie poddano przebieg transplantacji, dane dotyczące wszczepienia w przypadku przeszczepu szpiku i komórek progenitorowych pobranych z krwi obwodowej (liczbę neutrocytów powyżej 0,5 G/l osiągnięto odpowiednio w 17. i 14. dniu po transplantacji). Przedstawiono częstość występowania powikłań związanych z przeszczepem. Ostra postać choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi, jako szczególne powikłanie przeszczepowe, występowała w omawianej grupie u 57 proc. chorych, w tym u 43,1 proc. w stopniu zaawansowania klinicznego wymagającym intensyfikacji leczenia immunosupresyjnego. Analizie poddano przyczyny śmiertelności związanej z transplantacją. Główną przyczyną śmiertelności wczesnej była ostra postać choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (5 na 7 zgonów). Również w przypadku śmiertelności późnej zasadniczą rolę odgrywa przewlekła postać choroby (6 na 8 zgonów). Omówiono także powikłania hematologiczne, przedstawiając zapotrzebowanie na preparaty krwiopochodne. Określono częstość występowania wenoocluzyjnej choroby wątroby (2 przypadki na 44 transplantacje) oraz reaktywacji lub infekcji cytomegalowirusem (34 proc.). Ogólne przeżycie analizowane metodą Kaplana-Mayera określono na 64 proc., co stawia gdański ośrodek na równi z większością ośrodków europejskich.

Słowa kluczowe: przewlekła białaczka szpikowa, allogeniczne przeszczepianie komórek progenitorowych hemopoety.

Allogeniczne transplantacje komórek progenitorowych hemopoety w przewlekłej białaczce szpikowej – doświadczenia ośrodka gdańskiego

Allogeneic stem cell transplantation in chronic myelogenous leukemia – experience of the center in Gdańsk

Andrzej Hellmann, Maria Bieniaszewska, Jan Maciej Zaucha, Kazimierz Hałaburda, Joanna Balon

Klinika Hematologii IChW, Akademia Medyczna w Gdańsku

WSTĘP

Początki transplantacji szpiku kostnego sięgają wczesnych lat 70. W tym okresie postęp w dziedzinie szeroko pojętych nauk medycznych sprzyjał rozwojowi tej metody terapii. Spośród wielu osiągnięć należy podkreślić postęp, jaki dokonał się w zakresie typowania antygenów zgodności tkankowej (HLA), ostatnio także na poziomie molekularnym oraz rozwój farmakologii, a w szczególności odkrycie i wprowadzenie do rutynowych działań klinicznych cyklosporyny i rekombinowanych czynników wzrostu układu krwiotwórczego. Po niespełna trzydziestu latach przeszczep szpiku stał się – z procedury doświadczalnej – postępowaniem z wyboru w wielu schorzeniach hematologicznych. Przewlekła białaczka szpikowa (PBSz) jest schorzeniem, w którym Europejska Grupa ds. Transplantacji Krwi i Szpiku zaleca transplantację komórek progenitorowych hemopoety jako rutynowe postępowanie tera-

peutyczne. Mimo, że w ostatnich latach pojawiły się, budząc początkowo wielkie nadzieje, nowe sposoby terapii tego zespołu mieloproliferacyjnego, oparte na jego dobrze poznanej etiopatogenezie [1], allogeniczna transplantacja szpiku nadal pozostaje dla chorych z PBSz jedyną szansą na całkowite wyleczenie. Gdański ośrodek transplantacyjny rozpoczął swoją działalność w 1994 r. Pierwszym dokonany przeszczepieniem była transplantacja szpiku u 34-letniego mężczyzny, cierpiącego z powodu PBSz. Dawcą była zdrowa, zgodna w układzie HLA siostra pacjenta. Od tego czasu wykonano w ośrodku ponad 100 transplantacji allogenicznych, przy czym u prawie połowy chorych wskazaniem do zabiegu była PBSz. Stawia to ośrodek gdański w rzędzie pierwszych czterech ośrodków w kraju. Szczegółowa analiza wyników transplantacji jest dla nas podstawą dalszego ich doskonalenia, tym bardziej, że ich

The paper presents nine-year experience of Gdańsk transplantation center in allogeneic hemopoietic stem cell transplantation (HSCT) of chronic myelogenous leukemia (CML) patients. That diagnosis led to the transplantation in 44 patients, constituting over 50% of all transplantations performed during that period. Methods of peripheral blood and bone marrow progenitor cells collection are described. We analyzed the course of transplantation and the time to engraftment. In the peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT) the median time to engraftment was 14 days while in the bone marrow transplantation (BMT) it was 17 days. We also analyzed frequency of complications after HSCT. The acute graft versus host disease (aGvHD) occurred in 57% of patients in the whole group. In 43.1% of patients aGvHD required intensified immunosuppressive treatment. We also analyzed early treatment related mortality (TRM). AGvHD was the main cause of early mortality (5 of 7 cases). Similarly late TRM was caused by the chronic graft versus host disease (6 of 8 cases). We also described patients' requirement of blood products support, frequency of veno-occlusive disease (2 cases of 44 transplants) and reactivation or primary cytomegalovirus infection (34%). Overall survival was estimated the Kaplan-Mayer method at 64%, which is similar to the results published by most European centers for unselected groups of CML patients.

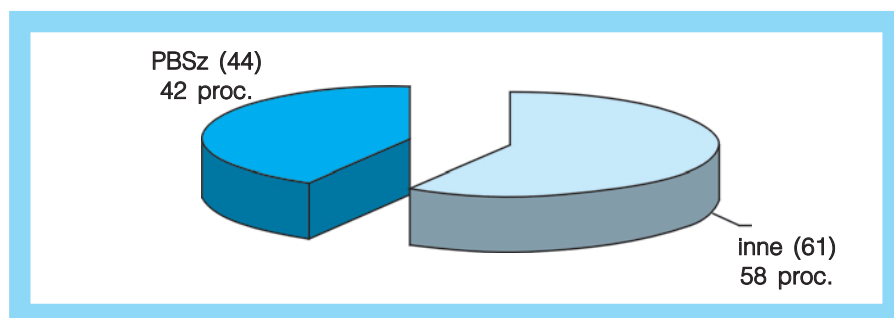
Key words: chronic myelogenous leukemia, allotransplantation of hematopoietic cell.

ocena staje się przedmiotem zainteresowania nie tylko transplantologów, ale również pacjentów, którzy trafiają do ośrodka. Ponieważ w literaturze polskiej brakuje podsumowań ośrodkowych pragniemy przedstawić wyniki transplantacji u chorych z PBSz, dotyczące ośrodka gdańskiego.

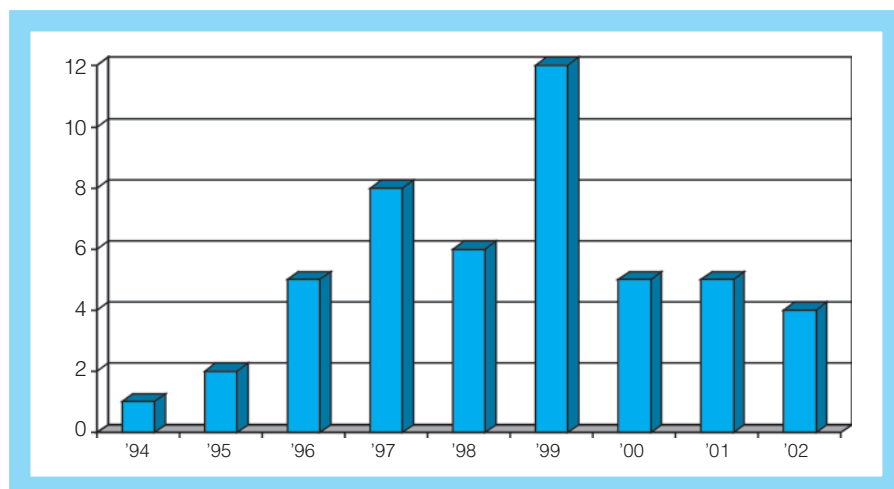
DANE OGÓLNE

Działalność gdańskiego ośrodka przeszczepiania komórek hematopoetycznych datuje się od maja 1994 r. Gdańsk stał się czwartym, aktywnym wówczas w Polsce ośrodkiem transplantacyjnym. Dokonanie pierwszego przeszczepienia szpiku od dawcy rodzinnego u chorego z PBSz określiło na dalsze lata główny program i zainteresowania zespołu transplantacyjnego, w którym zasadnicze miejsce odgrywają transplantacje w PBSz. Do maja 2002 r., a więc w ciągu 9 lat działalności, dokonano w Gdańsku łącznie 105 allotransplantacji, z czego 44 proc.

u chorych z tą jednostką chorobową. Do 1997 r., kiedy ośrodek osiągnął liczbę 15 allotransplantacji rocznie, liczba przeszczepień u chorych z PBSz w ciągu roku systematycznie wzrastała, aby w kolejnych latach wahać się w zakresie od 5 do 12. Dane szczegółowe przedstawiono na ryc. 1. i 2. W grudniu 2001 r. dokonano pierwszego w ośrodku gdańskim przeszczepienia szpiku od dawcy niespokrewnionego. Pozwoli to rozszerzyć grupę poddanych przeszczepieniu w naszym ośrodku pacjentów, także o tych, dla których nie znaleziono dawcy rodzinnego. Problem ten dotyczy ok. 75 proc. chorych z PBSz, którzy z powodu wieku (do 45. roku życia w przypadku transplantacji od dawcy niespokrewnionego) i ogólnego stanu zdrowia kwalifikują się do procedury alloprzeszczepu. Wprowadzenie do terapii PBSz imanitibu (Glivec) skomplikowało jednoznaczne do niedawna kryteria kwalifikacji do przeszczepu.



Ryc. 1. Odsetek transplantacji w przewlekłej białaczce szpikowej



Ryc. 2. Liczba transplantacji w PBSz w kolejnych latach

pu. Świadomość ciężkich powikłań związanych z przeszczepem i stosunkowo niewielkiej toksyczności imanitibu nakazuje w grupie chorych po 40.–45. roku życia pewną ostrożność w kwalifikowaniu do transplantacji również od dawców rodzinnych.

PACJENCI

W latach ubiegłych do allotransplantacji od dawcy rodzinnego kwalifikowani byli chorzy w przewlekłej fazie PBSz (wyjątkowo w fazie akceleracji i kryzy blastycznej), do 55. roku życia w ogólnie dobrym stanie zdrowia. Wiek chorych poddanych tego typu przeszczepowi w naszym ośrodku mieścił się w zakresie od 16 do 54 lat i wynosił średnio 34 lata. Przewagę stanowili mężczyźni (64 proc.). Na 44 transplantacje tylko 4 nie zostały dokonane w fazie przewlekłej choroby.

MATERIAŁ PRZESZCZEPOWY

Jak wspomniano wyżej, materiał przeszczepowy pochodził od rodzeństwa chorych, zgodnego w układzie HLA. Pierwsze przeszczepy allogeniczne w naszym ośrodku były przeszczepami szpiku, który pobierany był od dawców w znieczuleniu ogólnym na sali operacyjnej w ilości średnio 1 200 ml. W 1995 r. został wykonany w naszym ośrodku pierwszy przeszczep allogenicznych komó-

rek progenitorowych pobranych z krwi obwodowej. W kolejnych latach ten typ przeszczepu stał się dominującym, a w 1998 i 1999 r. wszystkie przeprowadzone transplantacje były przeszczepami materiału pobranego z krwi obwodowej dawców. W związku z doniesieniami, że przeszczepianie komórek progenitorowych pobranych z krwi obwodowej może wiązać się u chorych z PBSz z większą częstością występowania przewlekłej postaci choroby *przeszczep przeciwko gospodarzowi* [2], od 2000 r. powrócono w przypadku dawców dla chorych z PBSz do pobierania szpiku, jako materiału przeszczepowego, mimo że procedura ta wiąże się z większym obciążeniem dla dawców i zwykle nie jest przez nich preferowana (ryc. 3.). Przyjmuje się, że minimalną ilością komórek wykazujących ekspresję antygenu CD 34+ (wczesnych progenitorów hemopoezy) potrzebną do odtworzenia układu krwiotwórczego jest liczba 2×10^6 /kg wagi ciała biorcy. Liczbę komórek CD 34+ określano w każdym materiale przeszczepowym metodą cytometrii przepływowej. Wykonywano także testy klonogenności (hodowle komórkowe) progenitorów, określające ich zdolność do proliferacji. Średnia liczba komórek CD 34+ przetaczanych po pobraniu od dawców z krwi obwodowej wynosiła 6,49 (2,04–18,98), a ze szpiku (dane

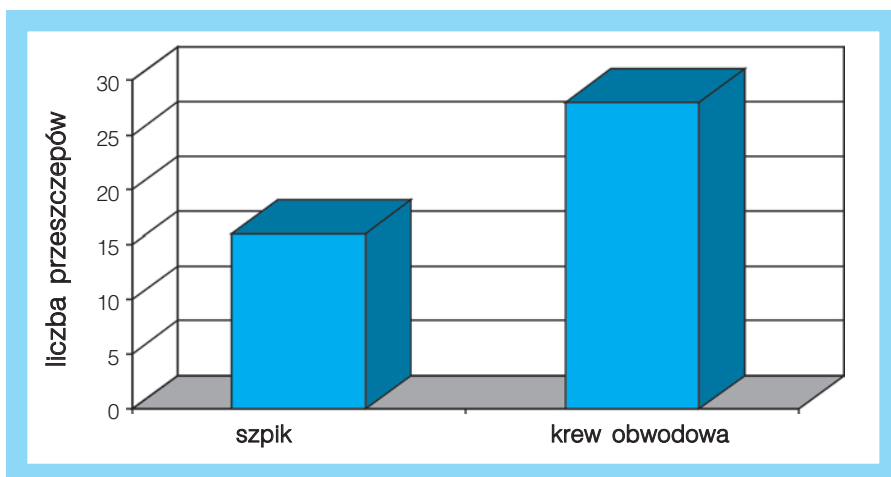
z 7 przeszczepów) 2,65 (1,93–4,0) $\times 10^6$ /kg wagi ciała biorcy.

PRZEBIEG ALLOTRANSPLANTACJI

Przetoczenie komórek progenitorowych hemopoezy, określane jako dzień 0 w schemacie allotransplantacji, jest poprzedzone postępowaniem mieloablacyjnym, które w naszym ośrodku u chorych z PBSz przeprowadzano wg schematu Bu-Cy120. Obejmowało ono podanie myleranu w sumarycznej dawce 16 mg/kg wagi ciała oraz cyclophosphamidu w dawce 120 mg/kg wagi ciała. Jako profilaktykę choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (*graft versus host disease* – GvHD) w dniu poprzedzającym przetoczenie przeszczepu rozpoczęto podawanie cyklosporyny w dawce 5 mg/kg wagi ciała i kontynuowano od dnia następnego w dawce 3 mg/kg wagi ciała biorcy, a następnie pod kontrolą stężenia w krwi pełnej. Dodatkowo w dniach +1, +3, +6 i +11 podawano metothreksat, w pierwszej dawce 15 mg/kg wagi ciała, w kolejnych 10 mg/kg wagi ciała biorcy. Od początku postępowania przygotowawczego wszyscy chorzy przebywają na oddziale intensywnej terapii hematologicznej, którego warunki zostały określone przez EBMT, której akredytację posiada nasz ośrodek.

WCZESNY OKRES POPRZESZCZEPOWY

Mianem wczesnego okresu poprzyszczepowego określa się czas 100 dni po przeszczepieniu komórek macierzystych hemopoezy. Dochodzi wtedy do aplazji szpiku, poprzedzającej wszczepienie i regenerację hemopoezy. Jest to również okres występowania, tzw. ostrych powikłań przeszczepowych, do których zaliczane są powikłania postępowania mieloablacyjnego (toksyczność bezpośrednia, choroba weno-okluzyjna wątroby), aplazja szpiku (powikłania hematologiczne) i ostra postać GvHD.



Ryc. 3. Rodzaj materiału przeszczepowego

POWIKŁANIA

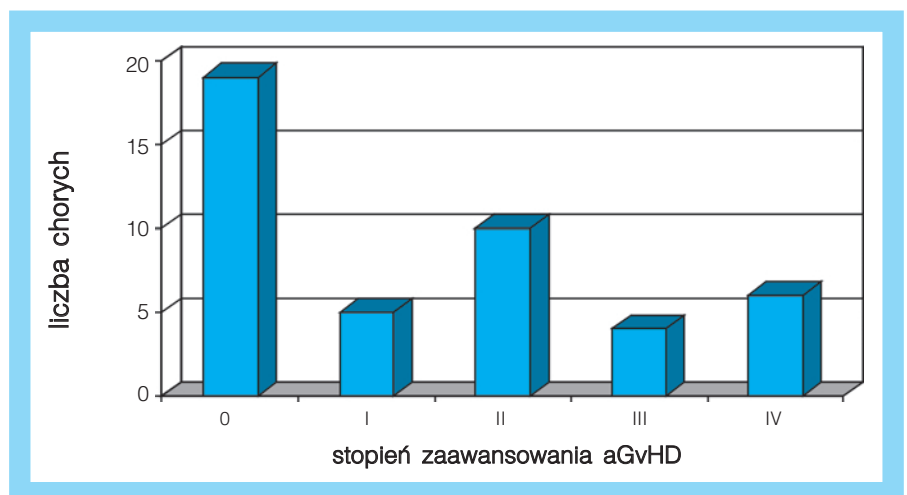
Wysokodozowana chemioterapia, przy zastosowaniu leczenia wspomagającego, była zwykle dobrze tolerowana przez chorych. Do rzadkości należały nudności i wymioty. U wszystkich chorych obserwowano hepatotoksyczność cytostatyków, objawiającą się wzrostem aktywności transaminaz w trakcie i po zakończeniu chemioterapii. U żadnego z chorych nie obserwowano w tym okresie innych, klinicznych wykładników uszkodzenia wątroby. U wszystkich chorych wystąpiły natomiast objawy toksyczności względem błon śluzowych. Z powodu *muco-sitis* IV^o 98 proc. chorych wymagało żywienia pozajelitowego. Okres wystąpienia objawów był osobniczo zmienny, średnio rozpoczynano hiperalimentację w dniu +7. Czas utrzymywania żywienia wynosił od 2 do 24 dni. Powikłania hematologiczne występują zwykle w okresie pancytopenii wynikającej z aplazji szpiku. U chorych z PBSz okres ten rozpoczynał się ok. 5.–7. doby po przeszczepie. Anemizację, wymagającą leczenia substytucyjnego obserwowano u wszystkich chorych. Średnie zapotrzebowanie na przetoczenia koncentratu czerwono-krwinkowego wynosiło 4 j. (zakres 2–24 j.) i było większe u chorych, u których wystąpiły krwawienia lub stwierdzono tzw. niezgodność większą w zakresie układu ABO między biorcą a dawcą [3, 4]. Zapotrzebowanie na koncentraty płytkowe wahało się w granicach 0–27 preparatów. Nie zanotowano zgonu z powodu ciężkiego krwawienia. U wszystkich chorych wystąpiły powikłania agranulocytozy pod postacią gorączki, której etiologię infekcyjną ustalono u 49 proc. chorych. Najczęściej wykrywanym patogenem we krwi chorych był *Staphylococcus epidermidis*. Powikłania infekcyjne, pod postacią posocznicy *Pseudomonas aeruginosa* były przyczyną zgonu u 1 chorego.

Tab. Ocena przyjęcia przeszczepu

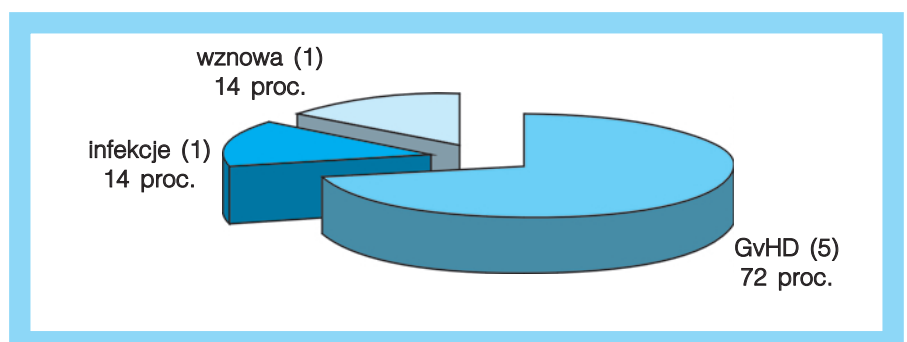
Parametr	Dni do uzyskania
neutrocyty > 0,5 G/l	15 (10–28)
neutrocyty > 1,0 G/l	19 (11–29)
płytki > 20 G/l	14 (9–22)
płytki > 50 G/l	15 (10–65)

Czas trwania aplazji zależy od tempa regeneracji hemopoety pochodzącej od dawcy. Za moment wszczepienia (przyjęcia przeszczepu), po okresie aplazji, uważa się dobę po przeszczepie, w której liczba neutrocytów zanotowana w dwóch kolejnych dniach przekroczy 0,5 G/l. Regeneracja układu płytkotwórczego przebiega zazwyczaj równolegle ze wzrostem liczby neutrocytów. Stężenie hemoglobiny wzrasta najwolniej, szczególnie u chorych z niezgodnością grup głównych krwi między biorcą a dawcą. Parametry oceny przyjęcia przeszczepu i czas do ich uzyskania przedstawiono w tabeli.

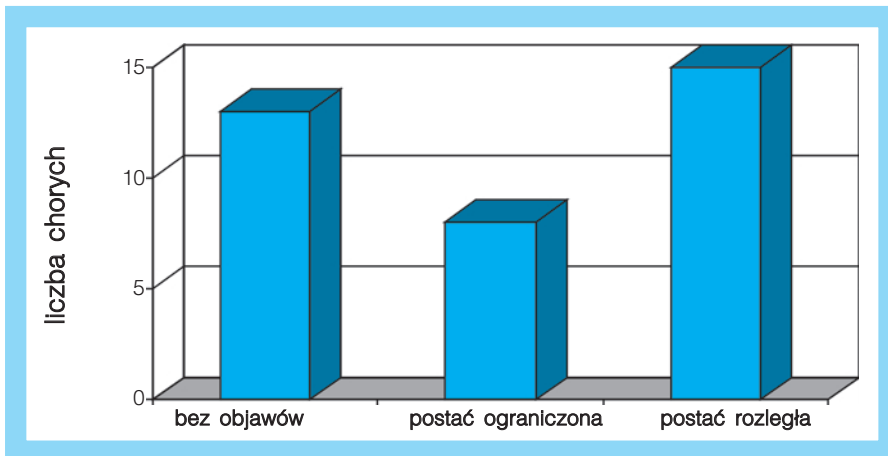
Okres regeneracji hemopoety jest także okresem rekonstrukcji układu immunologicznego dawcy i wiąże się z zagrożeniem wystąpienia objawów ostrej postaci GvHD. Objawy choroby w II i wyższych stopniach zaawansowania, a więc wymagających intensywnej terapii immunosupresyjnej wystąpiły u 43,1 proc. chorych z PBSz. Szczegółowe dane dotyczące występowania GvHD zamieszczono na ryc. 4. Ostra GvHD, oporna na steroidoterapię, była najczęstszą przyczyną wczesnej śmiertelności poprzyszczepowej (ryc. 5.). Innym poważnym powikłaniem, występującym we wczesnym okresie po-



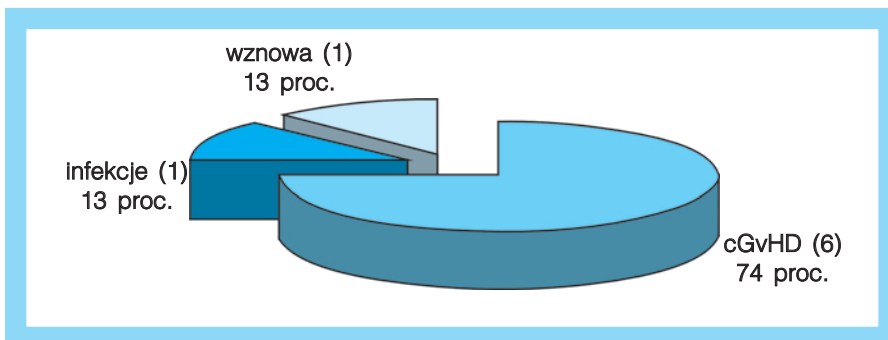
Ryc. 4. Występowanie ostrej postaci GvHD (*acute GvHD* – aGvHD)



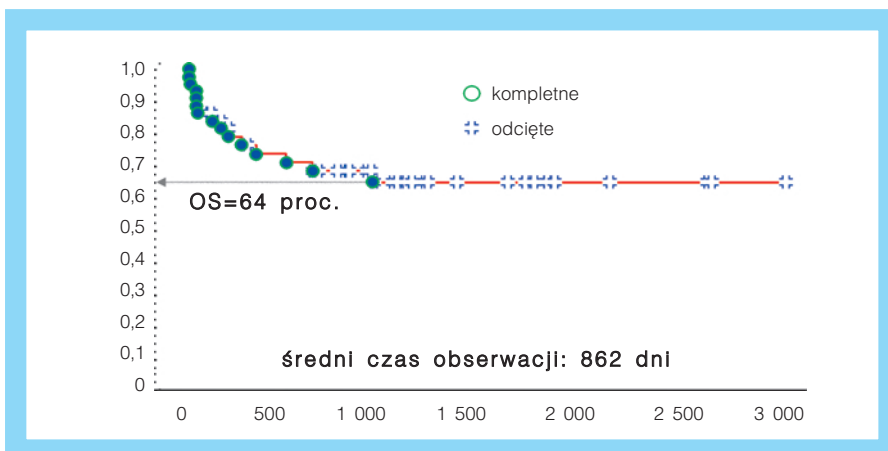
Ryc. 5. Przyczyny śmiertelności wczesnej



Ryc. 6. Występowanie przewlekłej postaci GvHD (*chronic GvHD – cGVHD*)



Ryc. 7. Śmiertelność późna



Ryc. 8. Krzywa przeżycia

przeszczepowym jest infekcja lub reaktywacja zakażenia wirusem cytomegalii (CMV). W celu możliwie wczesnego wykrycia zakażenia u chorych monitorowano występowanie średniowczesnego antygeny wirusa, którego obecność świadczy o jego aktywnej replikacji oraz obecność DNA wirusa metodą PCR. Konieczność leczenia wyprzedzającego, przed wystąpieniem objawów klinicznych, na podstawie laboratoryjnych cech zakażenia wirusem CMV, występowała u 34

proc. chorych poddanych przeszczepowi z powodu PBSz w naszym ośrodku [5]. U 1 chorej stwierdzono objawy kliniczne zakażenia w postaci jelitowej.

Powikłaniem związanym z chemioterapią i występującym najczęściej w okresie pierwszych 4 tyg. po przeszczepie jest choroba weno-okluzyjna wątroby (*venoocclusive disease – VOD*). Postać ciężka i umiarkowana VOD wystąpiła u 2 z 44 chorych leczonych w naszym ośrodku.

Na odległe wyniki allogenicznych transplantacji szpiku mają wpływ, obok wczesnych, również późne powikłania poprzyszczepowe, do których zalicza się przede wszystkim przewlekłą postać GvHD. Jej objawy wystąpiły u 79,3 proc. chorych i stanowiły poważny odsetek wśród przyczyn późnych zgonów poprzyszczepowych. Występowanie postaci przewlekłej GvHD oraz przyczyny śmiertelności późnej (18,2 proc. chorych) przedstawiono na ryc. 6. i 7. Wczesne wykrycie wznowy choroby w późnym okresie poprzyszczepowym stwarza możliwość zastosowania immunoterapii w postaci infuzji limfocytów dawcy, co miało miejsce u 1 chorej, niestety, bez pożądanego efektu terapeutycznego. Metodą monitorowania zagrożenia wznową jest badanie chimeryzmu hemopoetycznego oraz tzw. choroby resztkowej. Do monitorowania chimeryzmu u chorych z PBSz wykorzystywano w naszym ośrodku techniki molekularne stosowane przez medycynę sądową i polegające na ocenie hiperzmiennych sekwencji DNA różniących dawcę i biorcę [6], markerów związanych z różnicą płci dawcy i biorcy [6] oraz niezgodność w zakresie układów grupowych krwi. Chorobę resztkową monitorowano poprzez badanie obecności chromosomu Ph i rearanżacji genowej *bcr/abl*.

PRZEŻYCIE

Mimo opisanych powikłań ogólne przeżycie chorych z PBSz poddanych allotransplantacji komórek progenitorowych hemopoezy od dawców spokrewnionych przekracza w naszym ośrodku 60 proc. (krzywą przeżycia przedstawiono na ryc. 8.), co stawia nasz ośrodek na równi z większością renomowanych ośrodków europejskich.

OMÓWIENIE

Ponaddziesięcioletnia działalność ośrodka przeszczepowego

w Gdańsku opiera się na świadomości, że mimo dokonanego postępu allogeniczna transplantacja szpiku, choć uznana za procedurę rutynową, pozostaje nadal trudnym przedsięwzięciem terapeutycznym, wymagającym ścisłego, skoordynowanego działania wielu osób o różnych specjalnościach i stałego doskonalenia. Analiza wyników własnych i porównywanie ich z uzyskiwanymi w innych ośrodkach stanowi jedną z metod kształcenia. Bieżące śledzenie doniesień naukowych pozwala na wdrażanie nowych metod i środków do dziedziny przeszczepowej. Pobieranie komórek progenitorowych z krwi obwodowej, opisane w literaturze w 1993 r. [7] zastosowano w naszym ośrodku niepełna 2 lata po ukazaniu się publikacji.

Ryzyko powikłań przeszczepowych oraz ostateczny sukces w postaci trwałego wyleczenia, jest ściśle związane z odpowiednią kwalifikacją do przeszczepu. Kwalifikacja ta obejmuje zarówno czynniki związane z chorobą, jak i zależne od stanu klinicznego biorcy. Przystępując do kwalifikacji chorych z PBSz starano się o jak najściślejsze określanie czynników ryzyka, wg ogólnie przyjętych danych, stąd niewielki odsetek transplantacji dokonywanych w fazie innej niż przewlekła PBSz [8, 9]. Wnikliwe rozważanie czynników ryzyka pozwala na uzyskanie wyników transplantacji nie odbiegających od zbiorczych danych EBMT oraz publikowanych w piśmiennictwie światowym [10, 11]. Dotyczy to zarówno częstości występowania powikłań (w szczególności aGvHD), jak i śmiertelności związanej z przeszczepem [12].

PIŚMIENNICTWO

1. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al. *Efficacy and safety of a specific inhibitor of the bcr-abl tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia*. N Engl J Med 2001; 344 (14): 1031-7.
2. Scott MA, Gandhi MK, Justice HK, et al. *A trend towards an increased incidence of chronic graft-versus-host disease following allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation: a case control study*. Bone Marrow Transplantation 1999; 22: 273-6.
3. Bieniaszewska M, Balon J, Hałaburda K, et al. *Analiza odnowy erytropoezy po przeszczepie komórek progenitorowych od dawców zgodnych i niezgodnych w zakresie grup głównych krwi*. Acta Haematol Pol 1999; 30: 289.
4. Benjamin RJ, Connors JM, Mc Gurk S, et al. *Prolonged erythroid aplasia after major ABO-mismatched transplantation for chronic myelogenous leukemia*. Biol Blood Marrow Transplant 1998; 4: 151-6.
5. Hałaburda K, Gryckiewicz R, Pawełczyk T, et al. *The use of intravenous and oral gancyclovir combination in pre-emptive treatment of CMV-PCR positive patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*. Bone Marrow Transpl 1998; 21: 142.
6. Hellmann A, Zaucha JM, Pawłowski R, et al. *Amplification of the VNTR systems HUMACTBP2 and HUMTHO1 by the polymerase chain reaction for documentation of residual recipient cells after allogeneic bone marrow transplantation*. Applied Biology Communication 1996; 6: 127.
7. Russel NH, Hunter A, Rogers S, et al. *Peripheral blood stem cells as an alternative to marrow transplantation*. Lancet 1993; 341: 1482.
8. Przepiora D, Smith T, Folloder J, et al. *Risk factors for acute graft versus host disease after allogeneic blood stem cell transplantation*. Blood 1999; 94 (4): 1465.
9. Mifflin G, Russel NH, Hutchinson RM, et al. *Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation for haematological malignancies – an analysis of kinetics of engraftment and GVHD risk*. Bone Marrow Transplantation 1997; 19: 9-13.
10. Körbling M, Mirza N, Thall P, et al. *100 HLA-identical, allogeneic blood stem cell transplantations: The M. D. Anderson Cancer Center Experience*. Bone Marrow Transplantation 1997; 19, Suppl 1: S72, Abstract 0284.
11. Gratwohl A, Passweg J, Baldomero H. *Bone marrow transplantation activity in Europe 2000*. Bone Marrow Transpl 2001; 36: 18-29.
12. Devergie A, Janin A. *No differences in acute GVHD or survival, using peri-*

pheral blood stem cells from related donors, compared to bone marrow. Bone Marrow Transpl 1998; 22: 131.

ADRES DO KORESPONDENCJI

prof. dr hab. med. **Andrzej Hellmann**
Klinika Hematologii IChW
Akademia Medyczna
ul. Dębinki 7
80-952 Gdańsk