

Transplantace krvetvorných buněk

M. Krejčí, J. Mayer, Z. Adam, J. Vorlíček

Interní hematologická klinika Lékařské fakulty MU a FN Brno, pracoviště Bohunice, přednosta prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.

Souhrn: Autologní a alogenní transplantace krvetvorných buněk tvoří důležitou součást léčby především hematologických malignit, ale uplatňují se i v terapii jiných onemocnění. Provedení transplantace vede u řady pacientů k trvalému vyléčení, na druhé straně především alogenní transplantace s sebou nesou riziko četných komplikací. Následující přehledná práce obsahuje informace o typech transplantátů, jejich odběrech a zpracování, dále o možnostech a způsobech vyhledávání vhodných dárců krvetvorných buněk. Další části jsou věnovány přípravným předtransplantačním režimům a komplikacím, které mohou po provedení transplantace nastat. Poslední část se zabývá klinickým využitím transplantací krvetvorných buněk a je zde uveden přehled diagnóz, u kterých lze tuto léčebnou metodu použít.

Klíčová slova: autologní transplantace – alogenní transplantace – krvetvorné buňky

Transplantation of haematopoietic cells

Summary: Autologous and allogeneic transplantations of haematopoietic cells form an important part of treatment of, particularly haematological, malignancies but have their place in the treatment of other diseases as well. Transplantation brings permanent remission in a number of patients. However, transplantation, and the allogeneic one in particular, is associated with a range of complications. The following review paper provides information on the types of transplants, their collection and processing, on the options for and ways to seek suitable donors of haematopoietic cells. Other sections of the paper focus on preparatory pre-transplantation regimens and complications that might occur after the transplantation. Finally, the paper reviews clinical uses of haematopoietic cell transplantations and provides a summary of diagnoses in which this treatment method can be applied.

Key words: autologous transplantation – allogeneic transplantation – haematopoietic cells

Úvod

Krvetvorba je nesmírně komplikovaný a komplexně řízený proces, který je výsledkem působení mnoha humorálních faktorů – cytokinů, a dále výsledkem řady buněčných interakcí, na kterých se podílejí vlastní krvetvorné buňky a stroma kostní dřeně. Krvetvorba probíhá tak, že z hematopoetických kmenových buněk vznikají po řadě dělení a řadě vývojových stadií terminální diferenciované buňky, které jsou běžně přítomny v periferní krvi a zde plní své funkce (leukocyty, erytrocyty, trombocyty). Krvetvorba tedy vzniká z malé populace pluripotentních kmenových buněk kostní dřeně, které mají schopnost jak sebeobnovy, tak diferenciace. Nezralé krvetvorné buňky na svém povrchu nesou strukturu CD34, což je jejich zásadní charakteristika. Za určitých okolností, např. po podání růstových faktorů krvetvorby, může dojít k vyplavování nezralých krvetvorných buněk z kostní dřeně do periferní krve. Takovému podnětu říkáme mobilizace

a vyplavené buňky jsou většinou nazývány periferní kmenové buňky (peripheral blood stem cells – PBSC).

Definice transplantace krvetvorných buněk

Vlastní transplantace krvetvorných buněk znamená převod štěpu krvetvorných buněk formou nitrožilní infuze příjemci. Transplantaci předchází podání přípravného režimu, který tvoří většinou kombinace cytostatik ve vysokých dávkách (tzv. vysokodávkovaná chemoterapie) nebo kombinace cytostatik a celotělového ozáření. Nejčastější indikace k transplantacím krvetvorných buněk představují hematologické malignity, ale transplantace krvetvorných buněk se provádějí i u některých solidních tumorů a autoimunitních onemocnění.

Aplikace vysokodávkované chemoterapie je značně toxická, její toxicita je hematologická a nehematologická. Podání cytostatik ve vysokých dávkách by bez podání štěpu vedlo mimo

jiné k ireverzibilní aplazii kostní dřeně pacienta. Hematologickou toxicitu pozitivně ovlivňuje právě podání štěpu krvetvorných buněk, k uchycení štěpu krvetvorných buněk a postupné obnově krvetvorby dochází zpravidla do 2–3 týdnů po transplantaci periferních krvetvorných buněk, u krvetvorných buněk z kostní dřeně je tento interval o něco delší.

Typy transplantátů, jejich odběry a zpracování

K transplantacím a k obnově krvetvorby po vysokodávkované léčbě se používají různé druhy transplantátů.

Autologní transplantace znamená, že pro transplantaci jsou použity krvetvorné buňky nemocného, odebrané zpravidla ve stadiu remise nebo minimální aktivity základní nemoci.

Alogenní transplantace znamená, že pro transplantaci jsou použity krvetvorné buňky jiného člověka. U alogenních transplantací jsou transplantáty krvetvorných buněk získávány od

vhodných příbuzných či nepříbuzných dárců. Optimální dárcem bývá nejčastěji sourozenec, který má s pacientem shodné všechny důležité povrchové antigeny na leukocytech (tzv. HLA identický příbuzný dárcem), v současné době je podmínkou shoda 10 z 10 antigenů I. a II. HLA třídy (lokusy A, B, C, DR, DQ). Vhodným dárcem však může být i HLA identický nepříbuzný dárcem, nalezený v transplantačních registrech.

Výjimečně se provede tzv. **syngenní transplantace**, je-li dárcem jednovaječné dvojče. Autologní transplantace nese riziko, že transplantát přece jen může obsahovat nádorové buňky, že bude tzv. kontaminován. U autologní transplantace je protinádorový účinek zajištěn jen předtransplantační vysokodávkovanou terapií, vlastní transplantace neléčí, jen umožňuje podání této vysokodávkované léčby tím, že dojde k obnově fatálně poškozené krvetvorby. Naproti tomu alogenní transplantát není kontaminován. Navíc obsahuje lymfocyty, schopné rozpoznat přežívající nádorové buňky příjemce, které jsou pak imunitními mechanismy likvidovány. Jde o tzv. reakci štěpu proti nádoru. Alogenní transplantace tedy umožňuje podání vysokodávkované terapie tím, že obnoví krvetvorbu jako u autologní transplantace, ale má sama o sobě výrazný léčebný účinek.

Odběr kostní dřeně pro transplantaci se provádí v celkové anestezii. Pacient nebo dárcem leží na břiše a technika odběru je podobná jako při provádění trepanobiopsie. Do zadních částí pánevních kostí se provádějí opakované vpichy a z jednoho vpichu se aspiruje asi 3–5 ml dřevové krve. Z jednoho kožního vpichu je možné provést více vpichů do kosti a z jednoho kostního vpichu je možné provést více aspirací; po každé aspiraci se jehla mírně posune na jiné místo. Odebrání většího množství dřevové krve z jednoho místa by mělo za následek velkou příměs periferní krve. Celkem se odebírá kolem 15–20 ml dřevové krve na kg hmotnosti dárce. U dospělého je to

tedy zhruba 1 000–2 000 ml. Dřevová krev se filtruje, aby se zachytily větší shluky tkání a drobné úlomky kostí, a potom se dále zpracovává. Správně bohatý transplantát obsahuje alespoň 2×10^8 jaderných buněk na kg hmotnosti příjemce.

Odběr periferních kmenových buněk (PKB) se provádí pomocí speciálních krevních separátorů. Krev přitékající do přístroje je smíchána s antikoagulačním roztokem a dále vtéká do centrifugy. Rotací v centrifuze se rozdělí jednotlivé složky krve podle svojí hustoty: nejperiferněji jsou erytrocyty, potom granulocyty, dále mononukleární buňky, trombocyty a nakonec plazma. V případě odběru PKB se z centrifugy odsávají mononukleární buňky suspendované v plazmě. Suspenze není nikdy zcela čistá a obsahuje určitá množství dalších krevních elementů. Suspenze mononukleárních buněk obsahuje také lymfocyty a monocyty, ale je výrazně obohacena právě o progenitorové buňky. Ty totiž vypadají morfologicky jako mononukleární buňky a nejsou běžnými mikroskopickými technikami nijak nápadné a zjištělné. Objem získaného transplantátu je kolem 200–300 ml a během jedné separace separátorem proteče kolem 3 objemů krve dárce (asi 10–15 l). Načasování odběru PKB se děje zpravidla sledováním koncentrace CD34+ mononukleárních buněk v krvi pomocí flowcytometru. Pro stimulaci se využívá většinou G-CSF (filgrastim, Neupogen) v dávkách 10–16 µg/kg. Správně bohatý transplantát obsahuje alespoň $2,5 \times 10^6$ CD34+ buněk na kg hmotnosti příjemce.

Pupečníková krev je získávána bezprostředně při porodu a jde o krev plodu z pupečníku a placenty. Získá se jí asi kolem 100 ml.

Zpracování transplantátů: Transplantáty mohou být použity čerstvé nebo se dále zpracovávají. Zpracování má několik důvodů: může jít o redukci objemu, odstranění nežádoucích příměsí a konzervaci v případě nutnosti transplantát uschovat.

Suspenzi PKB je možné podat bez jakýchkoliv úprav. Využívá se toho hlavně u alogenních transplantací. Redukce objemu většinou obnáší centrifugaci a odsátí plazmy. Kostní dřeně se zpravidla zpracovávají na separátorech, kde se z nich získá suspenze mononukleárních buněk. V některých případech je snaha dále redukovat množství erytrocytů nebo z transplantátů odstranit plazmu. Je to hlavně u alogenních transplantací, když dárcem a příjemcem nemají stejnou krevní skupinu. Samotný tento fakt není kontraindikací transplantace a po transplantaci, v případě úspěšného uchycení štěpu, se krevní skupina změní podle skupiny dárce. Zvláštní procedurou je **odstranění lymfocytů z transplantátu**. Využívá se např. u haploidentických transplantací. U autologních transplantátů je někdy prováděno tzv. **čištění (purging)**. Má za cíl eliminovat kontaminující nádorové buňky. Provádí se to např. kultivací transplantátu s některými cytostatiky nebo odstraňováním nádorových buněk imunologickými metodami. V některých případech lze z transplantátu selektovat jen čisté progenitorové krvetvorné buňky CD34 pozitivní. Je však nutné říci, že veškeré tyto selekční metody dosud nepřinesly jednoznačný klinický benefit, a jsou tedy chápány jako experimentální.

V mnoha případech, zvláště u autologních transplantací, je potřeba transplantát nějakou dobu uchovat do termínu transplantace. Nejběžnější je tzv. **kryokonzervace**. Transplantáty se uchovávají ve speciálních kontejnerech v tekutém dusíku při teplotě -196°C , kde vydrží teoreticky neomezeně dlouho. Není však možné je takto zchladit přímo. Nejprve je nutné k suspenzi mononukleárních buněk transplantátu přidat kryoprotektivum, většinou DMSO (dimetylsulfoxid). Celý proces zpracování transplantátů musí být proveden nesmírně pečlivě a kvalitně. Kvalita transplantátů se kontroluje mikrobiologicky a kultivací progenitorových buněk (zpravidla CFU-GM).

Vyhledávání vhodného dárce krvetvorných buněk

Je-li potřeba provést alogenní transplantaci, je nutné na prvním místě hledat potenciálního dárce v rodině a začít u sourozenců. Zde je pravděpodobnost zdědění stejných haplotypů, a tudíž úplné HLA shody. Bohužel, jen menšina nemocných má HLA identického sourozence. Výjimečně je možné najít dárce v širším příbuzenstvu. Není-li úspěch ani tam, je potřeba se obrátit na registry dobrovolných dárců krvetvorných buněk. Tyto registry začaly vznikat v 70. letech 20. století a nyní je jich po celém světě několik desítek s celkem více než 5 mil. registrovaných dárců. Největší je registr v USA, tzv. NMDP (National Marrow Donor Program), velký je také německý registr. Registry jsou mezi sebou propojeny, takže při vyhledávání se získává informace od všech potenciálních dárců. Ne všichni dárce jsou ale kompletně vyšetřeni na HLA antigeny I. a II. třídy. Počet kompletně vyšetřených dárců se v různých registrech liší, ale v průměru činí 20–50 % ze všech dárců registru. Jestliže není nalezen potenciální vhodný dárce ihned, musí se dárce, shodný jen v I. třídě, složitě zvát na další dotypování. Tím se celý proces prodražuje a prodlužuje. Darování krvetvorných buněk je bezplatné, ale pracoviště, které o transplantát žádá, musí uhradit všechny náklady spojené s jeho získáním. Mnohé velké světové registry jsou dnes již velké profesionální organizace. Na prvním místě musí být bezpečnost dárce, vždyť jde o naprosto zdravého člověka, který dobrovolně podstupuje odběr krvetvorných buněk.

HLA typizace je stále častěji prováděna pomocí metod molekulární biologie. Pro antigeny II. třídy je to nutností a tyto metody nastupují i pro typizaci antigenů I. třídy. U nepříbuzenských dárců a jejich příjemců se obě třídy standardně vyšetřují metodami molekulární biologie.

Velmi zjednodušeně lze říci, že čím vyšší je shoda v HLA antigenech, tím menší je riziko rozvoje reakce štěpu

proti hostiteli (graft-versus host disease – GvHD) a větší pravděpodobnost úspěšného potransplantačního průběhu. V dnešní době je za standardní považováno testovat shodu nejen pro HLA-A, -B a -DRB1, ale i pro HLA-C a -DQB1.

Výjimečně lze provést transplantaci od tzv. **haploidentického dárce**. Tím může být např. rodič nebo potomek. Transplantát musí mít dostatečně kvalitní obsah krvetvorných buněk a musí být výrazně zbaven T-lymfocytů. Transplantace je ale provázána řadou komplikací způsobených zvláště pozdním vyvrácením imunity příjemce.

Předtransplantační režimy

Předtransplantační přípravný režim je volen individuálně s ohledem na základní onemocnění a klinický stav příjemce. Před transplantací se většinou podávají kombinace cytostatik nebo cytostatik a celotělového ozáření ve vysokých dávkách, což působí **myeloablativně**, tj. úplně zničí krvetvorbu nemocného. Role vysokodávkované terapie je trojí: jde o intenzivní imunosupresi, má výrazný protinádorový efekt a podílí se na vytvoření „místa“ pro přijetí nové kostní dřeně. Imunosuprese je důležitá hlavně před alogenní transplantací, neboť zde je intenzivní imunosuprese nezbytným předpokladem přijetí transplantátu a zamezení jeho rejekce. Proto je součástí některých protokolů i předtransplantační podání antitymocytárního, anti T-lymfocytárního nebo antilymfocytárního globulinu (ATG či ALG).

Klasickým režimem je kombinace cyklofosfamidu s celotělovým ozářením (total body irradiation – TBI). Cyklofosfamid je většinou podáván v dávce 60 mg/kg hmotnosti nemocného a den, dva dny po sobě. Toxický vliv záření na různé tkáně je různý. Senzitivitu lze vyjádřit asi v tomto pořadí: kostní dřeň, varlata, oční čočka, vaječníky, růstové chrupavky, plíce, ledviny, játra, srdce, zažívací trakt, mícha, mozek, slinné žlázy, kůže a kosti dospělých. Velmi citlivé jsou i buňky imu-

nitního systému. Dávky TBI se pohybují zhruba od 10 do 13,6 Gy s dávkou kolem 0,05 Gy za min. Jde o značné dávky, uvědomíme-li si, že LD50 pro člověka jsou asi 3–4 Gy. Vlastní provedení je poměrně komplikované a vyžaduje příslušné zařízení a vysoce kvalifikovaný personál. Je nezbytné zajistit homogenitu záření. Někdy se navíc záměrně určité části ozařují více a některé se vykrývají, aby se snížily vedlejší účinky (vykrývají se hlavně plíce). Celotělové ozáření je aplikováno v jedné dávce nebo více frakcích. Frakcionace snižuje vedlejší toxické účinky. Dlouhodobá toxicita je někdy velmi závažná a může zahrnovat: vznik katarakty, nezřídka končící operací, postižení ledvin, které se může manifestovat jako hemolyticko-uremický syndrom nebo jako chronická nefropatie, zpomalení růstu u dětí, zhoršení kognitivních funkcí, hypotyreóza, porušení funkce gonád a vyšší incidenci malignit u nemocných po transplantacích. Cyklofosfamid ve vysokých dávkách může způsobovat toxickou hemoragickou cystitidu. Je nutné nemocného masivně hydratovat a podávat uroprotektivum mesnu.

Dalším velmi často používaným režimem je kombinace busulfanu a cyklofosfamidu, BuCy. Klasicky je užíván perorální busulfan, který se podává celkem 4 dny po 6 hod v dávce 1 mg/kg (celkem tedy 16 mg/kg) a cyklofosfamid většinou v následujících 2 dnech v dávce 60 mg/kg a den, tedy celkem 120 mg/kg. Je velmi žádoucí monitorovat koncentraci busulfanu v krvi a podle toho upravit jeho dávku. Lze tím snížit frekvenci závažných komplikací. Velmi těžkou komplikací je vznik tzv. venookluzivní nemoci. Nevzniká jen po režimu BuCy, i když hepatotoxicita busulfanu a cyklofosfamidu ve vysokých dávkách k ní velmi přispívá. Projevuje se vzestupem bilirubinu, bolestivým zvětšením jater a ascitem, tato komplikace může být i smrtelná. Léčba je většinou symptomatická, jako nejúčinnější se v poslední době jeví podávání defibrotidu.

Myeloablace však není nezbytnou podmínkou úspěšného přihojení štěpu a obnovy krvetvorby. Klíčový význam má imunosuprese příjemce, která umožňuje přihojení dárcovských buněk. Od 90. let 20. století se začaly používat tzv. **nemyeloablativní režimy** nebo **režimy s redukovanou intenzitou** (reduced-intensity conditioning – RIC). Jejich účinek spočívá ve výrazné imunosupresi až imunoablacii příjemce, která umožní přihojení dárcovských buněk při současném významném snížení bezprostředních komplikací transplantace souvisejících s toxicitou myeloablativního režimu.

Otevírá se tak prostor pro využití výhod alogenních transplantací i u starších nemocných nebo pacientů s přítomností některých přidružených interních onemocnění. Režimů s redukovanou intenzitou je nyní již celá řada. Jsou založeny zpravidla na podání purinových analog, např. fludarabinu, která mají protinádorový efekt, ale jsou také intenzivně imunosupresivní. Často obsahují i alkylační látky, např. busulfan nebo melfalan. Některé režimy jsou založeny na relativně malé dávce celotělového ozáření anebo na podání antilymfocytárních protilátek. Ukazuje se však také, že tato metoda asi nebude vhodná u nemocných s velmi pokročilou nádorovou chorobou. Protinádorové účinky zde pravděpodobně nebudou dostatečné. Výhodou RIC režimů je především významné snížení toxicity. Někteří autoři však upozorňují na vyšší počet relapsů po RIC režimech ve srovnání s myeloablativními režimy.

Komplikace transplantací krvetvorných buněk

Sama povaha vysokodávkové chemoterapie, podání dávek na hranici netolerovatelné hematologické toxicity, dává tušit, že komplikace budou časté a mnohdy závažné. Morbidita je téměř 100%. Mezi základní potransplantační komplikace patří tyto: **toxicita přípravného režimu, selhání a rejekce štěpu, infekční komplikace, dále reakce štěpu proti hostiteli (GvHD).**

a) **Toxicita přípravného režimu:** Než dojde k obnově krvetvorby po transplantaci, uplyne zpravidla několik týdnů. Po tu dobu je nemocný ohrožen závažnými infekcemi v leukopenii a krvácením při trombocytopenii. Urychlení restituce leukocytů lze dosáhnout podáváním růstových leukocytárních faktorů. Limitací podání vysokodávkové chemoterapie však zůstává orgánová, slizniční a jiná toxicita. Vysokodávková terapie postihuje všechny rychle se dělící buňky, nejen buňky nádorové a kostní dřeně. Závažné může být poškození sliznic zažívacího traktu, tzv. **mukositida**. Může sahat od dutiny ústní až po tlusté střevo a projevat se silnými bolestmi, ulceracemi, zvracením a průjmem. K nejzávažnějším časným komplikacím přípravného režimu patří hepatotoxicita ve formě venookluzivní nemoci jater. V potransplantačním období může dojít k rozvoji hemolyticko-uremického syndromu, manifestujícího se intravaskulární hemolýzou, trombocytopenií, poruchou renálních funkcí, hypertenzí a neurologickými či psychickými poruchami. Jako další příklady toxicity cytostatik je možno uvést např. plicní fibrózu a kožní pigmentace způsobené busulfanem. Řada cytostatik se podílí na zhoršení jaterních a renálních funkcí. Nezanedbatelné je i riziko vzniku sekundárních malignit a trvalé poruchy reprodukčních schopností. Po transplantacích také bývá nutné nemocné přeočkovat, neboť dochází ke ztrátě paměťové imunity.

b) **Selhání a rejekce štěpu:** Štěp může selhat primárně (vůbec nedojde k jeho přihojení) nebo sekundárně (po předchozím přihojení dojde k rejekci). V etiologii hrají roli především nedostatečně kvalitní štěp, nedostatečné uchycení krvetvorných buněk v kostní dřeni a imunologické faktory.

c) **Infekční komplikace:** Bývají velmi časté po transplantacích krvetvorných buněk. Všichni pacienti po alogenní transplantaci krvetvorných buněk dostávají dlouhodobě (několik měsíců) antimikrobiální profylaktickou tera-

pii. U pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných buněk se mimo jiné poměrně často setkáváme s infekcí cytomegalovirem (CMV). Incidence CMV infekce je 15–60% a incidence CMV choroby 20–35%. CMV infekce je definována jako samostatná izolace CMV nebo detekce virových proteinů či nukleových kyselin z jakékoli tělesné tekutiny či tkáňového vzorku bez klinického korelátu, CMV choroba je definována přítomností příznaků z poškození příslušného orgánu (CMV pneumonie, CMV poškození zažívacího traktu) v kombinaci s detekcí viru. Mortalita CMV pneumonie je vysoká (kolem 50%). Proto jsou pacienti po alogenní transplantaci krvetvorných buněk pravidelně monitorováni pomocí kvantitativního PCR vyšetření, v případě nárůstu počtu kopií CMV nad určitou limitní hodnotu je zahájeno podávání antivirotika s účinkem na CMV. Jedná se o tzv. preemptivní podávání antivirotik.

d) **Reakce štěpu proti hostiteli (GvHD):** Jak již bylo uvedeno, lymfocyty dárce po alogenní transplantaci v příjemci přežívají. Je to umožněno tím, že předtransplantační režimy jsou imunosupresivní. Tento fenomén, dlouhodobé přežívání dárcovských lymfocytů, má dvě navzájem těžko oddělitelné stránky: jednou je reakce štěpu proti hostiteli, GvHD (graft versus host disease) a druhou je reakce štěpu proti nádoru GvT (graft versus tumor). GvHD je způsobena imunologickou reakcí buněk transplantátu proti organismu příjemce. Projevuje se jako **reakce akutní**, vznikající do dne 100 po alogenní transplantaci, anebo jako **chronická**, vznikající po dni 100. Akutní může odeznít nebo přejít do chronicity, chronická může vzniknout i de novo bez předchozí akutní GvHD. Akutní GvHD má několik forem manifestace, které mohou být různě vyjádřeny. Nejčastěji bývá při GvHD poškození kožní, jaterní a poškození zažívacího traktu, všechny tyto formy mohou být různě intenzivní a mohou se i vzájemně kombinovat. Poškození kůže je různé,

Tab. 1. Klasifikace akutní GvHD [9].

Stage	Kůže	Játra (bilirubin)	GIT
1	exantém pod 25 % povrchu	34–51 µmol/l	průjem nad 500 ml/den nebo perzistující nauzea
2	exantém 25–50 % povrchu	52–102 µmol/l	průjem nad 1 000 ml/den
3	exantém nad 50 % povrchu	103–255 µmol/l	průjem nad 1 500 ml/den
4	generalizovaná erytdermie s bulózními formacemi	> 256 µmol/l	silná bolest břicha a/nebo ileus
Grade			
I	1–2	0	0
II	3 <i>nebo</i>	1 <i>nebo</i>	1
III	–	2–3 <i>nebo</i>	2–4
IV	4	4 <i>nebo</i>	–

od erytému přes exantém, vypadající jako alergický, až k bulám a deskvamácím. Postižení jater se projevuje hyperbilirubinemií a elevací jaterních enzymů, zvláště obstrukčních. Postižení zažívacího traktu se projevuje jako nechutenství, zvracení nebo průjem, někdy velmi těžký. Chronická GvHD má projevy podobné chronickým autoimunitním chorobám, např. sklerodermii nebo Sjögrenovu syndromu. Může se projevovat suchostí sliznic, spojivek, chronickými kožními a jaterními změnami, závažné jsou chronické infekční a plicní komplikace. Doposud nejčastěji používané klasifikace akutní a chronické GvHD jsou uvedeny v tab. 1 a 2. V roce 2005 byla publikován návrh nové klasifikace chronické GvHD, který je založen na podrobném zhodnocení stupně (skóre 1–3) funkčního postižení jednotlivých orgánů či orgánových systémů při chronické GvHD (kůže, oči, sliznice dutiny ústní, gastrointestinální trakt, játra, plíce, klouby a další), dle tohoto návrhu je indikována systémová GvHD terapie u pacientů, kteří mají postižení 3 a více orgánů nebo funkčně významné postižení jednoho orgánu (skóre 2 a vyšší). Obecně, akutní i chronická GvHD může být velmi mírná, nevyžadující terapii, ale i závažná, aktivní, rezistentní na terapii, ohrožující život nemocného. Čím vyšší je neshoda v transplantačních HLA antigenech, tím intenzivnější je GvHD. Děti mají nižší riziko vzniku akutní a zejména chronické GvHD než dospělí. U nepřibuzných transplantací

Tab. 2. Klasifikace chronické GvHD [10].

Limitovaná chronická GvHD:

Jedna z následujících variant či obě dvě:

1. lokalizované postižení kůže
2. hepatální dysfunkce způsobená chronickou GvHD

Extenzivní chronická GvHD (varianta 1 nebo varianta 2 + 3):

1. generalizované postižení kůže *nebo*
2. lokalizované postižení kůže a/nebo hepatální dysfunkce způsobená chronickou GvHD *plus*
3. a) jaterní biopsie prokazující chronickou agresivní hepatitidu, „bridging“ nekrózu či cirhózu *nebo*
b) postižení očí: Schirmerův test – méně než 10 mm *nebo*
c) postižení slinných žláz či sliznice dutiny ústní – nutná histologická verifikace *nebo*
d) postižení kteréhokoli jiného cílového orgánu

ovlivňuje riziko vzniku významné akutní a chronické GvHD věk dárce. Transplantace od dárce staršího 45 let je spojena s vyšším výskytem obou forem GvHD než od dárce mladšího 30 let. Výskyt chronické GvHD je významně zvýšen v situaci, kdy je pacientem muž a dárce štěpu žena a stoupá s počtem těhotenství dárkyně. Rasa ani CMV status dárce riziko GvHD neovlivňují.

Profylaxe GvHD před transplantací u nepřibuzných dárců zahrnuje podání antithymocytárního globulinu (ATG), po alogenní transplantaci obnáší většinou kombinaci cyklosporinu A a metotrexátu. Nedochozí-li k rozvoji GvHD, lze cyklosporin A zpravidla do 6–8 měsíců zcela vysadit.

Standardní terapií první linie akutní GvHD jsou kortikoidy v dávce 2 mg/kg, tato terapie je účinná asi u 50 % pacientů. Steroid-rezistentní GvHD je obtížně terapeuticky zvladatelná a je

spojena s vysokou morbiditou i mortalitou. Za steroid-rezistentní je GvHD považována zpravidla tehdy, pokud nedojde k léčebné odpovědi na podání kortikosteroidů do 3–14 dní.

Terapii steroid-refrakterní akutní GvHD lze rozdělit do 4 skupin. Do první léčebné skupiny, využívající nespecifickou eliminaci T-lymfocytů, patří antithymocytární globulin, anti-lymfocytární globulin, alemtuzumab, denileukin diftotox a protilátky proti CD2, CD3, CD147. Druhou skupinu tvoří preparáty ovlivňující cytokiny nebo jejich receptory, jedná se např. o daclizumab, dále infliximab a etanercept. Třetí skupinu tvoří cytostatika a nespecifická imunosupresiva jako cyklofosfamid, metotrexát, mykofenolat mofetil, pentostatim, sirolimus. Poslední skupina zahrnuje buněčnou terapii a další postupy, jedná se o možné využití mezenchymálních kmenových

Tab. 3. Přehled současných názorů na indikace k transplantacím krvetvorných buněk u dospělých [5].

Onemocnění	Stav onemocnění	Alogenní, dárců sourozenec	Alogenní, dárců nepříbuzný (plně shodný nebo s 1 neshodou)	Autologní
akutní myeloidní leukemie (AML)	CR1 (nízké riziko)	2	3	2
	CR1 (střední nebo vysoké riziko)	1	2	1
	CR2	1	2	1
	CR3, počínající relaps	1	2	4
	AML M3 – nedosažení molekulární remise	1	2	4
	relaps nebo refrakterní AML	2	3	4
akutní lymfoblastická leukemie (ALL)	CR1 (nízké riziko)	3	4	3
	CR1 (vysoké riziko)	1	1	3
	CR2, počínající relaps	1	1	4
	relaps nebo refrakterní	2	4	4
chronická myeloidní leukemie	první chronická fáze (1CP)	1	1	3
	fáze akcelerace nebo více než 1CP	1	1	3
	blastický zvrát	4	4	4
myeloproliferativní choroby (kromě CML) myelodysplastický syndrom		2	2	3
	RA, RAEB	1	1	2
	RAEBt	1	2	2
chronická lymfatická leukemie	vysoké riziko	1	1	2
myelom		2	3	1
amyloidóza (AL)		2	3	2
těžká aplastická anémie	nová diagnóza	1	4	4
	relabující/refrakterní	1	1	4
paroxysmální noční hemoglobinurie		1	2	4
non-hodgkinský lymfom (NHL): difuzní velkobuněčný B-lymfom	CR1 (střední nebo vysoké riziko)	4	4	2
	chemosenzitivní relaps, ≥ CR2	3	3	1
	refrakterní	3	3	4
NHL typu mantle cell	CR1	3	3	1
	chemosenzitivní relaps, ≥ CR2	3	3	1
	refrakterní	3	3	4
lymfoblastický lymfom a Burkittův lymfom	CR1	3	4	2
	chemosenzitivní relaps, ≥ CR2	2	3	1
	refrakterní	3	3	4
folikulární B-buněčný NHL	CR1 (střední nebo vysoké riziko)	4	4	2
	chemosenzitivní relaps, ≥ CR2	2	2	1
	refrakterní	3	3	3
T-buněčný NHL	CR1	3	4	2
	chemosenzitivní relaps, ≥ CR2	3	3	2
	refrakterní	3	3	4
Hodgkinův lymfom	CR1	4	4	4
	chemosenzitivní relaps, ≥ CR2	3	3	1
	refrakterní	3	3	2
karcinom prsu	adjuvantní a inflamatorní	4	4	3
	metastazující chemosenzitivní	3	3	3
testikulární nádory	chemosenzitivní relaps	4	4	1
	refrakterní	4	4	2
ovariální tumory	minimal residual disease	4	4	3
	refrakterní	3	3	4
gliom	po operaci	4	4	3
malobuněčný karcinom plic	limitované onemocnění	4	4	3
karcinom ledviny	metastazující	3	3	4

Tab. 3. Přehled současných názorů na indikace k transplantacím krvetvorných buněk u dospělých [5] – pokračování.

Onemocnění	Stav onemocnění	Alogenní, dárce sourozenec	Alogenní, dárce nepříbuzný (plně shodný nebo s 1 neshodou)	Autologní
autoimunitní cytopenie		3	4	2
sklerosis multiplex		3	4	2
revmatoidní artritida		4	4	2
systémový lupus erythematoses		3	4	2
morbus Crohn		4	4	2

Vysvětlivky:

Indikace k transplantacím:

1 – standardní, rutinní u vhodných nemocných (standard of care)

2 – provedení transplantace je léčebnou možností po předchozím pečlivém zvážení možných rizik a benefitu pro pacienta (clinical option)

3 – na provedení transplantace v této indikaci není jednoznačný názor, stav vyžaduje další klinické studie (developmental)

4 – transplantace nejsou všeobecně doporučované

buněk, rituximabu a extrakorporální fototerapie.

Všechny uvedené terapeutické postupy vykazují pouze částečnou účinnost. Steroid-rezistentní akutní GVHD zůstává i nadále závažným terapeutickým problémem.

V terapii chronické GvHD se využívá podobných imunosupresivních léků jako u akutní GvHD. Chronická GvHD, zvláště léčená imunosupresí, představuje závažný stav imunodeficiency, který může být provázen řadou infekčních komplikací.

GvHD je ale spjata s GvT reakcí. Proto je po alogenních transplantacích méně relapsů leukemií než po transplantacích autologních. Odstranění lymfocytů z transplantátu, tzv. deplece T-lymfocytů, má za následek sice eliminaci GvHD, ale také vyšší riziko selhání štěpu a relapsů. Proto se deplece běžně neprovádí. Velmi silná je GvT reakce u chronické myeloidní leukemie (CML). U leukemií se tato reakce někdy označují jako GvL (graft versus leukemia). Toho se využívá i terapeuticky. V případě relapsu onemocnění po transplantaci je možné nemocnému podat jen infuzi dárcových lymfocytů, což v řadě případů vede k opětovné remisi onemocnění, i bez jakékoliv chemoterapie, jen imunitními mechanismy. Tento léčebný postup je využíván od

konce 80. let 20. století. Ve srovnání s CML mají naopak akutní leukemie (ALL i AML) relativně nízkou intenzitu GvL reakce.

Řešení často komplexních potransplantačních komplikací vyžaduje přítomnost kvalifikovaného personálu s hlubokou znalostí problematiky intenzivní péče, celé šíře vnitřního lékařství a řady dalších oborů. Jen tak je možné zabezpečit, že se nemocnému dostane péče na solidní úrovni a nebude vystaven nadměrnému riziku komplikací, jež s sebou vysokodávkovaná chemoterapie nepochybně nese. A v takovém případě pozitiva vysokodávkované protinádorové chemoterapie jednoznačně převáží.

Klinické využití transplantace krvetvorných buněk

Roční počty transplantací krvetvorných buněk v Evropě se v současné době pohybují v řádu desítek tisíc. Např. v roce 2005 bylo v Evropě provedeno celkem 24 168 transplantací krvetvorných buněk (HSCT), z toho bylo 8 890 alogenních (37%) a 15 278 autologních (63%). Dále bylo v roce 2005 provedeno 3 773 retransplantací u již dříve transplantovaných nemocných. Hlavní indikace pro transplantaci krvetvorných buněk představovaly tyto skupiny diagnóz: leukemie

(7 404 případů, z celkového počtu transplantací tvořily 31%, 82% z toho čísla byly alogenní transplantace), lymfomy včetně mnohočetného myelomu (13 825 případů, z celkového počtu transplantací představovaly 57%, 89% z toho byly autologní transplantace), solidní tumory (1 655, 7%, 92% z toho autologní transplantace) a nenádorová onemocnění (1 131, 5%, 93% z toho alogenní transplantace). V roce 2005 byla data do registru EBMT hlášena celkem z 597 transplantačních center v 43 spolupracujících zemích.

Jednou z důležitých faktorů určujících výsledek transplantace je věk. Obecně platí, že čím je pacient starší, tím je vyšší pravděpodobnost různých komplikací a výsledky transplantace jsou horší. Provedení autologní transplantace je doporučováno zpravidla do 65 let věku, pokud není u nemocných přítomno další závažné onemocnění. Provedení alogenní transplantace od HLA identického sourozence bylo dříve doporučováno do 50 let, provedení alogenní transplantace od HLA identického nepříbuzného dárce do 45 let. V současné době se zavedením režimů s redukovanou intenzitou lze provádět alogenní transplantace i u pacientů starších, spíše záleží na celkovém klinickém stavu pacienta a věku biologickém.

Seriózní transplantční pracoviště v Evropě jsou sdružena v organizaci, která se jmenuje EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation). Tato organizace pořádá pravidelně sjezdy a publikuje řadu užitečných materiálů. Transplantční pracoviště zase musejí posílat hlášení o počtu transplantací a další podrobné informace k centrálnímu zpracování. Tato organizace také vydala kritéria, která mají transplantční pracoviště splňovat, aby mohla dostat akreditaci. Týkají se řady vybavení, zázemí v nemocnici (např. HLA laboratoř, radioterapie, zobrazovací vyšetřovací metody, cytogenetika, transfuzní služba, mikrobiologie, laboratoř hematologická a mikrobiologická, lékárna), zkušeností personálu a frekvence transplantací. Tato kritéria jsou poměrně náročná, cílem je zajištění, že se takto komplikované výkony budou provádět jen v solidních medicínských zařízeních. EBMT také vydala zásady současných názorů na indikace transplantací krvetvorných buněk. Ty jsou uvedeny v tab. 3.

Klinické využití transplantace krvetvorných buněk je značné. Transplantace se staly zcela rutinní, byť velmi náročnou léčebnou metodou. Obzvláště alogenní transplantace se všemi svými úskalími a komplikacemi patří jistě mezi nejkomplikovanější medicínské zákroky vůbec.

Literatura

1. Basara N, Kiehl MG, Fauser AA. New therapeutic modalities in the treatment of graft-versus-host disease. *Crit Rev Oncol Hematol* 2001; 38: 129–138.
2. Faber E. Transplantace krvetvorných buněk. In: Indrák K et al (eds). *Hematologie*. Praha: Triton 2006: 237–247.
3. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S et al. National institute of health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11: 945–956.
4. Grathwohl A, Baldomero H, Fauendörfer K et al. Results of the EBMT activity survey 2005 on haematopoietic stem cell transplantation: focus on increasing use of unrelated donors. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 71–87.
5. Ljungman P, Urbano-Ispizua A, Cavazzana-Calvo M et al. Allogeneic and auto-

logous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe. *Bone Marrow Transplant* 2006; 37: 439–449.

6. Mayer J, Cetkovský P, Krejčí M. Steroid-rezistentní akutní reakce štěpu proti hostiteli. *Transfúze Hematol dnes* 2007; 13: 192–199.
7. Mayer J, Starý J. Vysokodávkovaná chemoterapie a transplantace krvetvorných buněk. In: Mayer J et al (eds). *Leukemie*. Praha: Grada Publishing 2002: 196–212.
8. Mayer J. Co jsou nemyeloablativní transplantace krvetvorných buněk? *Vnitř Lék* 2001; 47 (Suppl 1): 29–33.
9. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P et al. Consensus conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15: 825–828.
10. Sullivan KM. Graft versus host disease. In: Thomas ED, Blume KG, Forman SJ et al (eds). *Hematopoietic Cell Transplantation*. Oxford: Blackwell Science 1999: 515–536.
11. Vaňásek J, Starý J, Kavan P et al. Transplantace kostní dřeně. Praha: Galén 1996.

MUDr. Marta Krejčí
www.fnbrno.cz
e-mail: mkrejci@fnbrno.cz

Doručeno do redakce: 15. 7. 2009

www.csnn.eu