

МОБИЛИЗАЦИОННИ РЕЖИМИ ЗА ПОЛУЧАВАНЕ НА ХЕМОПОЕТИЧНИ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ ЗА ЦЕЛИТЕ НА ТРАНСПЛАНТАЦИЯТА



Въведение

г-р Иван Тонев

Специализирана
болница за активно
лечение на хемато-
логични заболявания
ЕАД, гр. София

Трансплантацията на хемопоетични стволови клетки е утвърден метод за лечение на доброкачествени и злокачествени хематологични заболявания, които разширява показанията си и се прилага все повече при по-възрастни пациенти^[1-3]. Източници за ХСК са костният мозък, периферната кръв и венозната кръв от пълна връв^[4]. Все повече периферната кръв е предпочитан източник^[3,5] поради по-малката инвазивност и поносимост на процедурата за получаване^[5,6] и по-бързото прихващане на присадката^[6-8].

Успешната трансплантация изисква достатъчно количество хемопоетични стволови клетки, способни да възстановят пълноценното кръвотворене в костния мозък на реципиента^[9]. Няма доказателства какво е минималното количество за успешна трансплантация, но приета минимална безопасна доза при автоложна такава е 2×10^6 /kg CD34+ клетки^[1,10,11]. Тя осигурява стабилно прихващане с възстановяване на неутрофилния и тромбоцитния брой най-често преди четиринадесетия ден след трансплантацията. Минималната желана доза при болест на

ТРАНСПЛАНТАЦИЯТА НА ХЕМОПОЕТИЧНИ ССТВОЛОВИ КЛЕТКИ (ТХСК) е съвременен метод за лечение на доброкачествени и злокачествени хематологични заболявания. Все по-често като източник на хемопоетични стволови клетки (ХСК) се използва периферна кръв поради по-малката инвазивност на процедурата и по-бързото хематологично възстановяване след трансплантация. За да могат да бъдат получени от периферна кръв чрез цитафереза, ХСК трябва да бъдат мобилизирани, т.е. те да напуснат костно-мозъчната ниша и да навлязат в периферното кръвообращение. Мобилизацията се извършва чрез прилагане на колонио стимулиращи фактори (КСФ), които се използват самостоятелно или в комбинация с химиотерапия. По-високата възраст и по-големият брой предходни химиотерапии, особено с цитостатици с изразена миелотоксичност, както и ангажирането на костния мозък от някои заболявания като множествения миелом, са предпоставка за затруднена или неуспешна мобилизация. Тогава не е възможно да се съберат достатъчно клетки за трансплантация или за постигане на необходимия добив се провеждат повече процедури за получаване. За решаването на този проблем в практиката през последното десетилетие навлезе медикаментът плериксафор, който като антагонист на рецептора CXCR-4 отслабва прикрепването на ХСК към стромалните клетки в костно-мозъчната ниша. Съобщения за постигане на по-добри добиви след хемомобилизация с цитарабин и G-CSF при пациенти с миелом показват още една възможност за постигане на достатъчен клетъчен добив при тази проблемна група пациенти.

Ходжкин и неходжкинови лимфоми е 2×10^6 клетки/kg тегло, оптималната е 5×10^6 клетки/kg. При пациенти с миелом с оглед осъществяването

на тандемна автоложна трансплантация често се изисква добив на 4×10^6 клетки/kg. При алогенна трансплантация за оптимална се счита

Ключови думи:
трансплантация,
мобилизация,
хемопоетични
стволови клетки
от периферна
кръв, колонио-
стимулиращ
фактор (КСФ)

доза между 4 и 6×10^6 клетки/kg. При по-ниска доза съществува опасност от неуспешно прихващане на присадката, а по-високата доза най-често е съпроводена и с по-голям брой CD3+ клетки, с което нараства рискът от по-тежка реакция на присадката срещу приемателя.

Мобилизация

В периферната кръв на човек има минимално количество хемопоеични стволови клетки, поради което предварителното стимулиране (мобилизация) за преминаването им от костния мозък в циркулацията е основен момент от трансплантационния процес. Има два основни типа мобилизация – с цитокини (растежни фактори) („steady-state“) и мобилизация след химиотерапия, последвана от растежни фактори (хемомобилизация)^[9].

За да се прецени дали мобилизацията протича успешно и да се предвиди резултатът от аферезата, чрез точна цитометрия се изследва броят на циркулиращите CD34+ клетки. Ако той е достатъчен, се преминава към левкафереза, при която чрез клетъчен сепаратор от донора се отделя суспензия, богата на стволови хемопоеични клетки. За прагово ниво на работа е прието CD34+ клетки да са над $10/\mu\text{L}$ ^[11,12], като при тази стойност очакваният добив е около $0.5 \times 10^6/\text{kg}$ ^[12]. Ако клетките са над $20/\mu\text{L}$, 94% от цитаферезите, извършени на следващия ден, могат да достигнат до 2×10^6 CD34+ клетки/kg. Ако броят на CD34+ клетките е $5/\mu\text{L}$, не се препоръчва афереза, а при 10 клетки $/\mu\text{L}$, може да са необходими 4 аферези, за да се достигне желаният добив^[6].

Растежните фактори засилват пролиферацията на хемопоеичните стволови клетки и намаляват експресията на адхезионните молекули, като по този начин улесняват излизането им от костно-мозъчните ниши в периферната кръв^[9]. В момента се използва предимно гранулоцитен колонио стимулиращ фактор (G-CSF) в доза $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ дневно s.c., на един или два приема от 4 до 6 дни, а използваният по-рано гранулоцит-макрофаг колонио стимулиращ фактор (GM-CSF) в много страни е изтеглен от пазара и няма широко приложение. Най-често се използват медикаментите Filgrastim и Lenograstim, както и биоеквивалентен G-CSF, който постига идентични резултати при мобилизация^[13]. Здравите донори за аlogenна ТХСК се мобилизират с КСФ. Предимствата на този тип мобилизация е предвидимостта на деня за афереза, която обичайно е на пети ден, възможността за амбулаторна подготовка, ниската токсичност и по-ниската цена в сравнение с хемомобилизацията. Недостатъци са по-ниските добиви и липсата на лечебен ефект върху заболяването при наличие на активност.

Хемомобилизацията е предпочитана при пациентите, при които има нужда от намаляване на туморния товар и по-високи добиви. Химиотерапията освен purging (очистване от туморни клетки) in vivo има и мобилиращ ефект чрез засилена хемопоеза през възстановителния период^[14] и увеличаване на броя на ХСК в костния мозък и периферната кръв. Този ефект се засилва допълнително от прилагането на растежните фактори. Популярен режим за хемомобилизация е този с Суслорфосфамиде в доза $2-4 \text{ g}/\text{m}^2 + 5 \mu\text{g}/\text{kg}$ G-CSF^[14] или модифицираният протокол с $1.5 \text{ g}/\text{m}^2$ Суслорфосфамиде + $10 \mu\text{g}/\text{kg}$



G-CSF^[15]. Много често мобилизацията е част от специфичното лечение с високодозова химиотерапия с курсове като (R)DHAP, (R)VINA или (R)ICE, прилагани за лечение на лимфоми. Повечето протоколи предвиждат започване на G-CSF $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ между 1 и 5 ден след края на химиотерапията и прилагането му за 5-9 дни. Денят за цитафереза се предвижда по-трудно в тази група пациенти поради честото забавяне на

възстановяването. Същевременно токсичността на химиотерапията и левкопенията, свързана с повишен риск от инфекции, често налагат болничен престой през целия период на мобилизация до получаването на желания добив ХСК. За да може да се прецени кога е подходящият момент за цитафереза, се препоръчва проследяването на броя на CD34+ клетки да започне от първия ден, когато левкоцитите надвишат $1 \times 10^9/L$ ^[9].

В СБАЛХЗ са използвани за мобилизация различни курсове, които са били част от терапията на пациентите (Cyclophosphamide, (R)DHAP, (R)VIHA, (R)ICE, IGEV, HyperCVAD, ДехаBEAM, GMALL и други), като G-CSF обичайно се прилага в доза 5 $\mu g/kg$ от деня, следващ края на курса и обичайния ден за афереза е девети от началото на прилагане на растежния фактор. Различната поносимост на пациентите към токсичността на химиотерапията и забавеното възстановяване за тромбоцити и левкоцити налагат понякога удължаване на мобилизацията с повече от седмица преди да се достигнат стойности, позволяващи безопасно и ефективно извършване на цитафереза.

Лоши мобилизатори

Приблизително 10-20% от пациентите са лоши мобилизатори, т.е. не могат да отделят достатъчно CD34+ клетки в периферната си кръв. Като такива се определят тези, при които след мобилизация циркулиращите CD34+ остават под 20/ μl в продължение на 6 дни мобилизация или добивът на CD34+ от 3 аферези е под $2 \times 10^6/kg$ тегло.

Рискови фактори, които често водят до неуспешна мобилизация на стволови клетки от периферна кръв, са:

- Възраст над 60 години.
- Инфилтрация на костния мозък от основното заболяване (засягане над 30%).
- Голям брой цикли на лечение (повече от две линии химиотерапия).
- Предходна лъчетерапия, особено обхващаща тазовите кости.
- Кратък интервал от време между химиотерапията и мобилизацията.
- Предходна експозиция към миелотоксични медикаменти – Melphalan, Fludarabine и други, както и повлияващи костно-мозъчната ниша като Lenalidomide.
- Тромбоцитен брой под $30 \times 10^9/l$ и/или нисък левкоцитен брой преди мобилизация, отразяващ намалени регенераторни способности на костния мозък.
- Предходна автоложна или алогенна ТХСК.

Част от здравите дарители също са лоши мобилизатори, без установена причина^[16].

Възможните дефекти могат да се дължат на три ниша:

- 1) недостатъчен брой ХСК поради фактори в самите клетки;
- 2) недостатъчен брой поради малко на брой или дефектни “ниши” или
- 3) неадекватен брой или отговор на ефекторните и поддържащи клетки като макрофаги или адренергични нерви. Тези фактори не се изключват взаимно^[6].

Подходи при лоши

мобилизатори

За да се преодолее ефектът от лоша мобилизация, се прилагат цитаферези с голям обем и/или повторна мобилизация след 2-4 седмици почивка.

През последните десет години се използва антагонистът на рецептора CXCR4 плериксафор^[6], който намалява свързването на стволовите клетки със стромата в костно-мозъчната ниша и улеснява излизането им в периферната кръв. Препаратът се прилага в доза 160 до 240 $\mu g/kg$ венозно или мускулно 6 до 12 часа преди аферезата^[1] или 240 $\mu g/kg$ подкожно вечерта преди аферезата, като при недостатъчен добив прилагането му се повтаря^[6]. Ранното включване на плериксафор в мобилизацията на пациенти, при които се установяват ниски стойности на CD34+ клетки води до по-високи добиви с по-малко аферези и по-малко разходи за трансплантация^[17]. Ако броят на CD34+ клетки остане нисък на ден +4, вечерното прибавяне на plerixafor може да увеличи броя на CD34+ клетки около шесткратно на следващата сутрин, дори ако пациентът е с много нисък брой CD34+ клетки ($<5 \times 10^4/\mu L$)^[6,18].

Клиничният опит в СБАЛХЗ при пациенти с повече от един неуспешен опит за мобилизация показва, че прилагането на плериксафор вечерта преди цитафереза води до успешна мобилизация при повечето от тях^[19]. При тези пациенти увеличаването на циркулиращите CD34+ води до успешно получаване на необходимото количество ХСК за трансплантация, в повече от половината случаи с една цитафереза. Въпреки че липсват ясни терапевтични алгоритми, може да е резонно при пациенти мобилизирани само с G-CSF да се об-

мисли употребата на plerixafor, ако CD34+ клетки са по-малко от 10⁶/μL на ден +4, за да се да се избегне необходимостта от многократни аферези или повторна мобилизация^[18].

Пациентите с миелом са специфична група, поради факта че сред тях лошите мобилизатори се срещат по-често, а за провеждането на тандемна трансплантация е необходима двойна доза ХСК. В последно време се появиха съобщения за значително по-добри добиви след употребата на цитарабин с G-CSF^[20,21]. Сравнявайки малка група пациенти с миелом в СБАЛХЗ, мобилизирани до момента с цитарабин и G-CSF с останалите пациенти с миелом от последните две години, установяваме значително по-добри добиви (12.6 x 10⁶/kg за групата с цитарабин + G-CSF; 3.98 x 10⁶/kg в групата, мобилизирани само с G-CSF и 4.998 x 10⁶/kg в групата след мобилизация с Сулфосфамид и G-CSF.

Обобщение

Мобилизацията е основен етап от трансплантацията на хемопоеични стволови клетки, от които зависи постигането на желан добив и последващо хематологично възстановяване на пациентите. На този етап най-важен индикатор е броят на CD34+ клетки, които са получени, за успеха на това лечение. Преодоляването на проблема с така наречените лоши мобилизатори се постига чрез въвеждането на нови химиотерапевтични режими, както и на медикаменти, повлияващи свързаността на хемопоеичните стволови клетки с костно-мозъчната ниша. Освен благоприятния ефект за повишаване на дозата получени CD34+ клетки, медикаментът пле-

риксафор повлиява получаването на групи субпопулации по-ранни прогениторни клетки, както и клетки от имунната система (В-клетки, Т-клетки, НК-клетки и гендритни клетки), които също имат важна роля за прихващането на присадката след трансплантация^[22]. ■

Книгопис:

- Munker, R., The BMT Data Book Including Cellular Therapy, 3 ed. Vol. 1. 2013: Cambridge University Press. 1-6.
- Appelbaum, F.R., Hematopoietic-Cell Transplantation at 50 New England Journal of Medicine, 2007. 357(15): p. 1472-1475.
- H Baldomero, M.G., A Grabohl, A Tichelli, D Niederwieser, A Madrigal and and K. Frauendorf, The EBMT activity survey 2009: trends over the past 5 years. Bone Marrow Transplantation, 2011. 46: p. 485-501.
- Gluckman, E., Choice of the donor according to HLA typing and stem cell source in The 2012 revised edition of the EBMT-ESH Handbook on Haematopoietic Stem Cell Transplantation, E.C. J. Apperley, E. Gluckman, T. Maszi, Editor. 2012. p. 90-107.
- Switzer, G.E., et al., Donating stimulated peripheral blood stem cells vs bone marrow: do donors experience the procedures differently? Bone Marrow Transplantation, 2001. 27(9): p. 917-923.
- To L.B., J.-P.L., Jean-Pierre Levesque, Kirsten E. Herbert, How I treat patients who mobilize hematopoietic stem cells poorly. Blood, 2011. 118(17): p. 4530-4540.
- Ringden, O., Faster engraftment of neutrophils and platelets with peripheral blood stem cells from unrelated donors: a comparison with marrow transplantation. Bone Marrow Transplantation, 2000. 25, Suppl. 2: p. S6-S8.
- D. Longo A. Fauci, D.K., S. Hauser, J. Jameson, J. Loscalzo, Hematopoietic Cell Transplantation, in Harrison's PRINCIPLES OF INTERNAL MEDICINE. 2015. p. 139e-2.
- Hübel, K., Mobilization and Collection of HSC. in The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies, E. Carreras, et al., Editors. 2019, Springer International Publishing: Cham. p. 117-122.
- Marshall A. Lichtman, T.J.K., Uri Seligsohn, Kenneth Kaushansky, Josef T. Prchal, Williams Hematology, Eighth Edition. 2010. Ch. 75.
- Mohty, M., et al., Autologous haematopoietic stem cell mobilisation in multiple myeloma and lymphoma patients: a position statement from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Bone Marrow Transplant, 2014. 49(7): p. 865-72.
- Schots, R., et al., The absolute number of circulating CD34+ cells predicts the number of hematopoietic stem cells that can be collected by apheresis. Bone Marrow Transplant, 1996. 17(4): p. 509-15.
- Schmitt, M., et al., Mobilization of autologous and allogeneic peripheral blood stem cells for transplantation in hematological malignancies using biosimilar G-CSF. Vox Sanguinis, 2016. 111(2): p. 178-186.
- Минчев, М., Арnaudov, Г., Трансплантация на хемопоеични стволови клетки, in Клинична хематология, Т. Лисичков, Editor. 2004.
- Lerro, K.A., et al., A simplified approach to stem cell mobilization in multiple myeloma patients not previously treated with alkylating agents. Bone Marrow Transplantation, 2003. 32(12): p. 1113-1117.
- Wang, T.-F., et al., Factors Associated with Peripheral Blood Stem Cell Yield in Volunteer Donors Mobilized with Granulocyte Colony-Stimulating Factors: The Impact of Donor Characteristics and Procedural Settings. Biology of Blood and Marrow Transplantation, 2008. 14(11): p. 1305-1311.
- Sánchez-Ortega, I., et al., Plerixafor in patients with lymphoma and multiple myeloma: effectiveness in cases with very low circulating CD34+ cell levels and preemptive intervention vs remobilization. Bone Marrow Transplantation, 2014. 50: p. 34.
- Jantunen, E. and G. Kvalheim, Mobilization strategies in hard-to-mobilize patients with lymphoid malignancies. European Journal of Haematology, 2010. 85(6): p. 463-471.
- Arnaudov, G., et al., Mozobil (plerixafor)-decision for "poor mobilisers" in autologous stem cell transplantation: P713. Bone Marrow Transplantation, 2012. 47.
- Jelinek, T., et al., Cyclophosphamide + G-CSF is more effective than cyclophosphamide + G-CSF as a stem cell mobilization regimen in multiple myeloma. Bone Marrow Transplant, 2019. 54(7): p. 1107-1114.
- Czerw, T., et al., Increased Efficacy of Stem Cell Chemomobilization with Intermediate-Dose Cyclophosphamide Plus Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) Compared with G-CSF Alone in Patients with Multiple Myeloma: Results of a Randomized Trial. Biol Blood Marrow Transplant, 2019. 25(2): p. 248-255.
- Saraceni, F., et al., Mobilized peripheral blood grafts include more than hematopoietic stem cells: the immunological perspective. Bone Marrow Transplant, 2015. 50(7): p. 886-91.