

Strokovni prispevek/Professional article

ZDRAVLJENJE AVTOIMUNSKIH CITOPENIJ PO ALOGENIČNI PRESADITVI KRVOTVORNIH MATIČNIH CELIC – PRIKAZ DVEH PRIMEROV

TREATMENT OF SEVERE AUTOIMMUNE CYTOPENIAS AFTER ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANTATION – REPORT OF TWO CASES

Irena Preložnik-Zupan¹, Jože Pretnar¹, Samo Zver¹, Nataša Fikfak²

¹ Klinični oddelek za hematologijo, Klinični center, Zaloška 7, 1525 Ljubljana

² Oddelek za hematorevmatologijo, Splošna bolnišnica »Dr. Franca Derganca« Nova Gorica, Ul. padlih borcev 13, 5290 Šempeter pri Gorici

Prispelo 2004-02-13, sprejeto 2004-03-17; ZDRAV VESTN 2004; 73: Supl. I: 51-4

Ključne besede: alogenična presaditev krvotvornih matičnih celic; avtoimunske citopenije; splenektomija

Izvleček – Izhodišča. Kot redek zaplet po presaditvi krvotvornih matičnih celic (PKMC) se lahko pojavijo avtoimunske citopenije: trombocitopenija, anemija in nevropenija. V literaturi je malo poročil o njihovem zdravljenju. Po neuspešnem imunosupresivnem zdravljenju smo opravili splenektomijo pri dveh bolnikih s hudo avtoimunsko citopenijo po alogenični PKMC.

Bolniki, metode in rezultati. Prva bolnica je bila zdravljena z nesorodno alogenično PKMC zaradi kronične mieloične levkemije (KML) v Royal Free Hospital v Londonu julija 2000. V obdobju po presaditvi je imela težave zaradi reaktivacije citomegalovirusa in seapse. Po sedmih mesecih so še vedno opazili nizke vrednosti eritrocitov in trombocitov v periferni krvi. Direktni Coombsov test je bil občasno pozitiven. Zdravljenje z glukokortikoidi in imunoglobulini ni bilo učinkovito. Februarja 2001 so opravili splenektomijo, po kateri se je povečala koncentracija hemoglobina v krvi in število trombocitov. Vrednosti hemoglobina so bile 110 g/L in število trombocitov nad $100 \times 10^9/L$. Bolnica je nadaljevala zdravljenje z itraconazolom, valaciklovirjem in penicilinom. Devet mesecev po splenektomiji je bila ponovno sprejeta v bolnišnico zaradi okužbe z E. Coli, zaradi katere je bolnica tudi umrla. Drugega bolnika smo zdravili s sorodno alogenično PKMC zaradi KML v Kliničnem centru v Ljubljani v januarju 2003. V obdobju po presaditvi ni imel večjih težav. Po sedmih mesecih se je pojavila krvavitev v očesno ozadje. V krvni sliki smo ugotovili hudo trombocitopenijo. Trombocitna protitelesa so bila pozitivna. Zdravljenje z glukokortikoidi in imunoglobulini je bilo neučinkovito. Septembra 2003 smo opravili splenektomijo, po kateri se je število trombocitov normaliziralo. Nadaljuje zdravljenje z itraconazolom, valaciklovirjem in penicilinom. Do sedaj ni imel resnejše okužbe.

Zaključki. Menimo, da je splenektomija učinkovit način zdravljenja odporne (rezistentne) imunske citopenije po PKMC. Nevarnost so kasnejše resne okužbe, ki lahko ogrozijo bolnikovo življenje.

Key words: allogeneic stem cell transplantation; autoimmune cytopenias; splenectomy

Abstract – Background. Autoimmune cytopenias, thrombocytopenia, anemia and neutropenia, are rare but serious complications after stem cell transplantation (SCT). There are only a few reports concerning their treatment. We performed splenectomy in two patients with severe autoimmune cytopenias after allogeneic SCT resistant to immunosuppressive treatment.

Patients, methods and results. First patient had unrelated alloSCT at Royal Free Hospital London for chronic granulocytic leukemia (CGL) in July 2000. Post-transplant period was complicated with cytomegalovirus reactivation and septicemia. Seven months later RBC and platelet counts went down. Direct Coomb's test was intermittently positive. She was resistant to steroids and high dose immunoglobulin. Splenectomy was performed in February 2001. After splenectomy hemoglobin concentration and platelet count improved. Her blood counts remained stable with hemoglobin about 110 g/L and platelets over $100 \times 10^9/L$. She continued therapy with Itraconazol, Valacyclovir and Penicillin. Three months later she was readmitted for E. Coli fulminated septic infection with fatal outcome.

Second patient had related alloSCT at University Medical Centre Ljubljana for CGL in January 2003. Post-transplant course was uneventful. Seven months later he was readmitted for retinal bleeding with severe thrombocytopenia with positive anti-platelet antibodies. He was resistant to steroids and high dose immunoglobulin. Splenectomy was performed in September 2003. His platelet count normalized and remains stable so far. He continues therapy with Itraconazol, Valacyclovir and Penicillin and didn't experience any serious infection.

Conclusions. We assume that splenectomy is an efficient treatment for resistant immune cytopenias after alloSCT. However, severe late infections may compromise the outcome.

Uvod

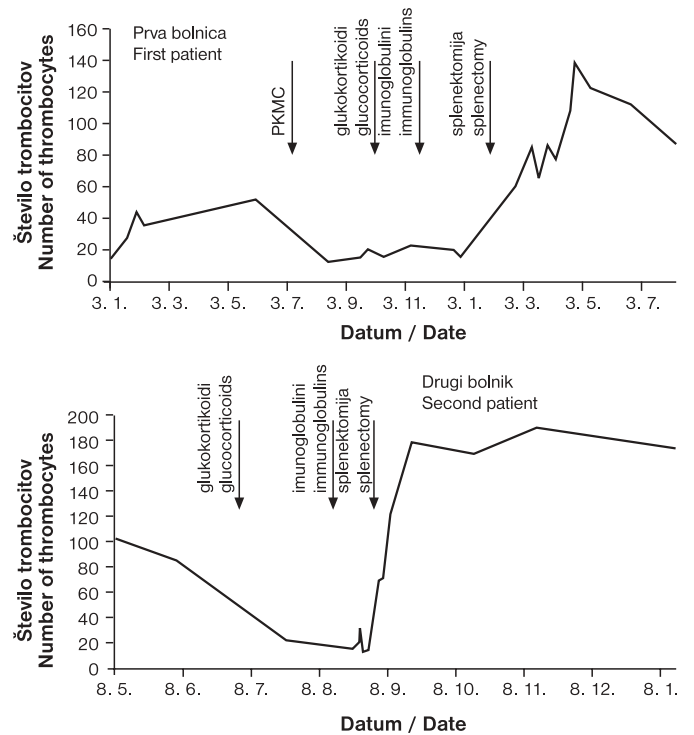
Presaditev krvotvornih matičnih celic (PKMC) je povezana z dolgim obdobjem celične in humoralne imunske oslabilosti prejemnikov. Le-ta je posledica kemoterapije, obsevanja celotnega telesa pred presaditvijo, uporabe imunosupresivnih zdravil za preprečevanje reakcije presadka proti gostitelju (GVHD) in počasnega ponovnega razvoja imunskega sistema (ontogeneza) (1-4).

Pri alogenični PKMC darovalčeve celice prepoznajo prejemnikove antigene kot tuje (aloreaktivnost), kar je osnova za razvoj GVHD (1). Z uveljavitvijo darovalčevih celic v prejemniku te celice tvorijo nov imunski sistem prejemnika. Če takrat nastopi humoralna ali celična reakcija proti lastnemu tkivu, govorimo o »avtoaktivnosti«. Pri tem v veliki meri sodeluje poškodba timusa, primarnega limfatičnega organa, kjer se v ontogenezi diferencirajo limfociti T. Do poškodbe timusa pride med pripravo bolnika na PKMC s kemoterapijo, okvari pa ga tudi akutna GVHD (5). Pri avtologni PKMC imamo torej predvsem vpliv kemoterapije, pri alogenični PKMC pa običajno sodelujeta oba dejavnika, torej kemoterapija in tudi GVHD (6). Poškodba timusa moti razvoj tolerance na lastne antigene (negativno selekcijo avtoaktivnih celic v ontogenezi limfatičnega sistema) in s tem dopušča razvoj avtoimunskih dogajanj po PKMC.

Pri bolnikih po PKMC pogosto najdemo različna avtoprotitelesa (7). Največkrat so to revmatoidni faktor, protijedrna, proti gladkim mišičnim celicam, protimitohondrijska avtoprotitelesa in še nekatera. Običajno so bolniki asimptomatski in ne potrebujejo zdravljenja. Pojavijo pa se tudi številni hematološki problemi, najverjetneje avtoimunsko pogojeni, kot so imunska trombocitopenija, anemija in nevtropenija, ki jih običajno moramo zdraviti (8-17). Pogosto so ustaljeni načini zdravljenja neučinkoviti. V članku prikazujemo dva bolnika z imunsko citopenijo po PKMC zaradi kronične mieloične levkemije (KML).

Prikaz prve bolnice

27-letni bolnici smo junija 1999 ugotovili KML. Začela je zdravljenje s hidrokisuro, hkrati pa smo opravili tudi HLA (humani levkocitni antigeni) tipizacijo bližnjih svojcev in ugotovili, da nima sorodnega darovalca krvotvornih matičnih celic (KMC). Pričeli smo poizvedbo za nesorodnim darovalcem KMC in ob pomoči registra darovalcev Anthony Nolan v Veliki Britaniji aprila 2000 našli ustreznega darovalca. Med tem je bolnična bolezen v februarju 2000 napredovala preko metamorfoze do limfoblastne preobrazbe. Zdravili smo jo s kemoterapijo po protokolu za indukcijsko zdravljenje akutnih limfoblastnih levkemij in dosegli ponovno, drugo kronično obdobje KML. 3. 7. 2000 so v Royal Free Hospital v Londonu izvedli nesorodno presaditev. Pripravo na presaditev so opravili s kombinacijo fludarabina, ciklofosfamida in obsevanjem celotnega telesa. Za preprečevanje akutne GVHD so uporabili monoklonsko protiteleso proti CD 52 antigenu - Campath-1H. Bolnica je prejela 1,86 10^6 /kg matičnih celic. Med aplazijo je preventivno prejela protivirusna, protibakterijska in protiglivična zdravila. V obdobju hude aplazije in v naslednjih mesecih je prišlo do več septičnih epizod. Dva meseca po PKMC je prišlo do reaktivacije citomegalovirusa (CMV), ki so jo zdravili z ganciklovirjem in foscarnetom, nato pa še katetske sepe s *S. aureus*. Ker so bile vrednosti levkocitov, hemoglobina in trombocitov še več mesecev po PKMC zelo nizke, tako da je bila odvisna od transfuzij koncentriranih eritrocitov in trombocitov, so večkrat ponovili punkcijo kostnega mozga, pri čemer niso ugotavljali ponovitve bolezni. Izključili so trombotično mikroangiopatijo, okužbo s CMV in HHV6 virusom. Redno je ambulantno prejela itrakonazol in ciprofloksacin, kasneje inhalacije pentamidina, aciklovir, rastni dejavnik za granulocite ter transfuzije. Coombsov test je bil občasno pozitiven. Zaradi suma, da gre za imunsko anemijo in trombocitopenijo, so jo zdravili z glukokortikoidi in imunoglobulini (Sl. 1). Koncentracija hemoglobina v krvi je zmerno porasla, število trombocitov je ostalo nizko. Odločili so se za splenektomijo, ki so jo opravili februarja 2001. Pred tem so



Sl. 1. Spremljanje števila trombocitov pri obeh bolnikih po različnih načinih imunosupresivnega zdravljenja. PKMC – presaditev krvotvornih matičnih celic.

Figure 1. Both patients platelet count measured before and post different type of immunosuppressive therapy.

bolnico preventivno imunizirali s polivalentno pnevmokokno vakcino, Hemophilus influenza B in meningokokno vakcino. Zraven je redno preventivno prejela penicilin 2-krat 500 mg/ dan. Po splenektomiji je postala neodvisna od transfuzij s številom trombocitov sprva okoli $60-70 \times 10^9/L$, nato preko $100 \times 10^9/L$ in hemoglobinom nad 110 g/L. Konec marca 2001 se je bolnica vrnila v Slovenijo. Redno je preventivno prejela itrakonazol, penicilin, valaciklovir in majhne odmerke prednizolona zaradi rezidualne hemolize. Po sedmih mesecih je zbolela za visoko telesno temperaturo in mrzlico. Kljub antibiotikom širokega spektra se je v nekaj urah razvil septični šok, zaradi česar je bolnica umrla. Naknadno smo prejeli izvid pozitivnih hemokultur. Izolirali so po *G* bakterijo *Escherichia Coli*.

Prikaz drugega bolnika

50-letnemu bolniku so junija 2002 s kliničnim pregledom in laboratorijskimi preiskavami ugotovili KML. Tudi citogenetična preiskava iz periferne krvi je potrdila prisotnost kromosoma Philadelphia. Bolnika smo zdravili s hidrokisuro. Opravili smo HLA tipizacijo svojcev zaradi predvidene PKMC. Brat je bil možen darovalec kostnega mozga. PKMC smo opravili 23. 1. 2003, še v kroničnem obdobju bolezni. Pripravo na presaditev smo opravili s kombinacijo ciklofosfamida in frakcioniranim obsevanjem celega telesa. Za preprečevanje akutne GVHD smo uporabili kombinacijo ciklosporina in metotreksata. Bolnik je prejel $2,8 \times 10^6$ /kg matičnih celic. Za preventivno okužbo v obdobju hude nevtropenije je prejel ciprofloksacinom, flukonazolom in aciklovir. Po shemi je prejel tudi rastni dejavnik za spodbujanje rasti granulocitov. Že 12. dan po presaditvi so bili v kostnem mozgu znaki regeneracije oz. obnovitve kostnega mozga. 22. dan smo bolnika odpustili v domačo oskrbo z naslednjo krvno sliko: levkociti $1,9 \times 10^9/L$, hemoglobin 120 g/L, trombociti $73 \times 10^9/L$. Doma je redno prejel ciklosporin, valaciklovir in omeprazol. Opravljal je redne ambulantne kontrole (Sl. 1).

Konec avgusta 2003, sedem mesecev po PKMC, smo ugotovili zmanjšanje števila trombocitov pod $20 \times 10^9/L$, blago anemijo s

hemoglobinom 93 g/L in makrocitozo. Število levkocitov je bilo v mejah normale ($7,9 \times 10^9/L$). Ponovili smo punkcijo kostnega mozga, kjer smo ugotavljali pomnožitev megakariocitov. Trombocitna protitelesa so bila pozitivna. Serologija na Epstein Barrov virus, citomegalovirus, parvovirus, humani herpes virus 6 in 8, viruse hepatitisa A, B in C ter virus HIV je bila negativna. Verižna polimerazna reakcija na CMV DNK je bila negativna. Coombsovi testi so bili negativni. Preverili smo tudi tumorske označevalce. Izključili smo tudi trombotično mikroangiopatijo. Iz opravljenih preiskav smo sklepali, da gre za imunsko trombocitopenijo.

Ukinili smo zdravljenje s ciklosporinom zaradi možnosti sekundarne trombocitopenije in pričeli zdravljenje s prednizolonom 1mg/kg telesne teže. Ker po treh tednih zdravljenja ni prišlo do porasta števila trombocitov, smo se odločili za splenektomijo. Bolnika smo na operativni poseg pripravili z imunoglobulini 0,5 g/kg telesne teže dva dni zapored, po katerih smo opažali zmeren porast števila trombocitov ($48 \times 10^9/L$). Tri dni pred posegom je prejel tudi polivalentno pnevmokokno vakcino, za dodatno preventivo okužbe s streptokokom pnevmonije pa smo pričeli zdravljenje tudi s penicilinom v ustaljenih odmerkih 2×500 mg/dan. 2. 9. 2003 so opravili splenektomijo, ki je potekala brez zapletov. Po tednu dni smo bolnika odpustili v domačo oskrbo s številom trombocitov $119 \times 10^9/L$. Nadaljeval je z rednim prejetjem valciklovirja, penicilina in trimetoprim-sulfametoksazola. Ob rednih ambulantnih kontrolah je število trombocitov stabilno. Bolnik doslej ni imel resnejših okužb.

Razpravljanje in zaključki

Avtoimunske bolezni predstavljajo redek zaplet po PKMC. Med njimi so najpogostejše avtoimunske citopenije (20). Pojavijo se ločeno kot trombocitopenija, hemolitična anemija ali nevtropenija, v kombinaciji po dve, ali kot pancitopenija (4, 6, 8–19). Lahko se pojavijo po alogenični sorodni in nesorodni PKMC, avtologni PKMC, pa tudi po PKMC z odstranjenimi donorjevimi limfociti T. Po alogenični PKMC so lahko vzrok imunske citopenije aloprotelesa, ki so posledica reakcije darovalca (donorja) proti prejemniku ali avtoprotelesa, kjer gre za reakcijo prejemnika proti samemu sebi zaradi izgube tolerance proti lastnim antigenom. Naslednji pomembni razlogi za razvoj alo- in avtoimunosti so okužbe in posledične antigenske navzkrižne reakcije ter učinek različnih zdravil (20).

Zdravljenje in prognoza bolnikov z imunsko citopenijo po PKMC zaradi imunske oslabilosti pogosto prihaja do različnih okužb. Te so lahko bakterijske, glivične in virusne in lahko sprožijo nastanek imunskih citopenij. Pri prvi bolnici je prišlo do reaktivacije CMV in nato še sepse, ki jo je povzročil *S. Aureus*, ki sta bili lahko sprožilna dejavnika avtoimunske hemolitične anemije in trombocitopenije. Poleg okužbe lahko sprožijo imunska dogajanja tudi različna zdravila, med katerimi je pogost imunosupresiv ciklosporin. V literaturi je opisan pojav avtoimunosti po ciklosporinu v obliki mikroangiopatije, citopenije in pozitivnih protijedrnih protiteles (ANA) (21). Pri drugem bolniku smo zaradi možnosti razvoja trombocitopenije po ciklosporinu tega zamenjali za glukokortikoide.

Zdravljenje in prognoza bolnikov z imunsko citopenijo po PKMC zaradi majhnega števila bolnikov ni jasna. Klasično imunosupresivno zdravljenje, ki vključuje glukokortikoide in imunoglobuline, je mnogokrat neučinkovito. Pri bolnikih prihaja do nevarnih zapletov v smislu krvavitev in okužb, ki se lahko končajo s smrtjo. Zato so poskušali še z mnogimi drugimi zdravili, kot so antitimocitni globulin, ciklofosfamid, vinkristin, splenektomija ter novimi monoklonskimi protitelesi. Preizkusili so tudi različne kombinacije med omenjenimi zdravili (8, 9). Zaradi slabega odgovora obeh bolnikov na zdravljenje z glukokortikoidi in prve bolnice tudi na imunoglobuline je bila pri obeh opravljena splenektomija. Pri obeh smo dosegli povečanje števila trombocitov, prva bolnica pa je še vedno potrebovala nizke odmerke glukokortikoidov zaradi znakov hemolize in posledično anemije.

V literaturi je malo podatkov o zdravljenju sekundarne imunske citopenije po PKMC s splenektomijo (19, 22). Sicer je

splenektomija vključena v sheme zdravljenja primarne, idiopatične imunske trombocitopenije takoj za glukokortikoidi in imunoglobulini. Najresnejša posledica tega zdravljenja so okužbe, predvsem s pnevmokoki, *Hemofilusom* sp. in meningokoki (23). Zato bolnike pred posegom cepimo s polivalentno pnevmokokno vakcino, *Hemofilus influence b* in konjugirano meningokokno vakcino C-. Mnogi priporočajo še 2–3 leta ali doživljenjsko zdravljenje z penicilinom V (24, 25). Ker se imunske citopenije po PKMC najpogosteje pojavijo med 7. in 20. mesecem, ko je bolnik še vedno imunokompromitiran, je tveganje okužb po splenektomiji še toliko večje. Pri obeh naših bolnikih se je pojavila imunska citopenija 7 mesecev po PKMC. Prva bolnica je umrla zaradi sepse z bakterijo *E. Coli*, pri drugem bolniku pa nismo opažali resnejših zapletov.

Menimo, da je splenektomija možen način zdravljenja imunske citopenije po PKMC, če so drugi načini imunosupresivnega zdravljenja, predvsem glukokortikoidi in imunoglobulini, neučinkoviti. Obstaja pa velika nevarnost okužb po posegu. Ta je toliko večja pri bolnikih po PKMC zaradi še vedno oslabiljenega imunskega sistema v času, ko je incidenca imunskih citopenij največja. Bolnike je potrebno vsaj dva tedna pred splenektomijo ustrezno cepiti, ob tem pa morajo preventivno še nekaj let ali doživljenjsko prejemati penicilin V.

Literatura

- Deeg JH. Delayed complications after hematopoietic cell transplantation. In: Thomas ED, Blume KG, Forman SJ. Hematopoietic cell transplantation. Oxford: Blackwell Science, 1999: 776–88.
- Roberts MM, To LB, Gillis D et al. Immune reconstitution following peripheral blood stem cell transplantation, autologous bone marrow transplantation and allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1993; 12: 469–75.
- Atkinson K. Reconstruction of the haemopoietic and immune systems after marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 5: 209–26.
- Sherer Y, Shoenfeld Y. Autoimmune diseases and autoimmunity post bone-marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 873–81.
- Itoh M, Takahashi T, Sakaguchi N et al. Thymus and autoimmunity: production of CD4+CD25+ naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance. *J Immunol* 1999; 162: 5317–26.
- Lambertenghi-Delilieri GL, Annaloro C, Della Volpe A, Oriani A, Pozzoli E, Soligo D. Multiple autoimmune events after autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1997; 19: 745–7.
- Ishikawa F, Shigematsu H, Gondo H et al. Autoreactive antibodies following autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 729–31.
- Kottaridis PD, Rees H, Smith G et al. A fatal case of autoimmune thrombocytopenia with an IgM anti-GPIIb/IX following one antigen mismatched unrelated donor bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1999; 23: 739–41.
- Ting SS, Ziegler JB, Vowels MR. Acquired autoimmune thrombocytopenia post-bone marrow transplantation for severe combined immunodeficiency. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21: 841–3.
- Lee SJ, Churchill WH, Konugres A et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura following allogeneic bone marrow transplantation treated with anti-D immunoglobulin. *Bone Marrow Transplant* 1997; 19: 173–4.
- Klumpp TR, Herman JH, Macdonald JS, Schnell MK, Mullaney M, Man KF. Autoimmune neutropenia following peripheral blood stem cell transplantation. *Am J Hematol* 1992; 41: 215–7.
- Hequet O, Salles G, Ketterer N et al. Autoimmune thrombocytopenic purpura after autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2003; 32: 89–95.
- Ashihara E, Shimazaki C, Hirata T et al. Autoimmune thrombocytopenia following peripheral blood stem cell autografting. *Bone Marrow Transplant* 1993; 12: 297–9.
- Ketterer N, Sonet A, Dumontet C et al. Toxicities after peripheral progenitor cell transplantation for lymphoid malignancies: analysis of 300 cases in a single institution. *Bone Marrow Transplant* 1999; 23: 1309–15.
- Sivakumaran M, Hutchinson RM, Pringle H et al. Thrombocytopenia following autologous bone marrow transplantation: evidence for autoimmune aetiology and B cell clonal involvement. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15: 531–6.
- Drobyski WR, Potluri J, Sauer D, Gottschall JL. Autoimmune hemolytic anemia following T-cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1996; 17: 1093–9.
- Jillella AP, Kallab AM, Kutlar A. Autoimmune thrombocytopenia following autologous hematopoietic cell transplantation: review of literature and treatment options. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26: 925–7.

18. Tosi P, Bandini G, Tazzari P et al. Autoimmune neutropenia after unrelated bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1994; 14: 1003-4.
 19. De Lord C, Marsh JC, Smith JG, Singer CR, Gordon-Smith EC. Fatal autoimmune pancytopenia following bone marrow transplantation for aplastic anaemia. *Bone Marrow Transplant* 1996; 18: 237-9.
 20. Hartert A, Willenbacher W, Günzelmann S et al. Successful treatment of thrombocytopenia and hemolytic anemia with IvIG in a patient with lupus like syndrome after mismatched related PBSCT. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 337-40.
 21. Damoiseaux JG, van Breda Vriesman PJ. Pathogenesis of cyclosporin A-induced autoimmunity: absence of T-cell reactivity towards syngeneic antigen presenting cells. *Autoimmunity* 1998; 27: 45-56.
 22. Bashey A, Owen I, Lucas GF et al. Late onset immune pancytopenia following bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 1991; 78: 268-74.
 23. Ejstrup P, Kristensen B, Hansen JB, Madsen KM, Schonheyder HC, Sorensen HT. Risk and patterns of bacteraemia after splenectomy: a population-based study. *Scand J Infect Dis*. 2000; 32: 521-5.
 24. McMullin M, Johnstone G. Long term management of patients after splenectomy. *British Medical Journal* 1993; 307: 1372-3.
 25. British Society of Haematology. Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults, children and in pregnancy. *British Journal of Haematology* 2003; 120: 574-96.
-