

Nagy dózisú kemoterápia és autológ CD34+ őssejt-transzplantáció alkalmazása súlyos felnőttkori terápiarefrakter poliszisztémás autoimmun kórképek kezelésében – az első hazai tapasztalatok

VÁRÓCZY LÁSZLÓ DR.¹, ILLÉS ÁRPÁD DR.¹, KISS EMESE DR.¹, SZEKANECZ ZOLTÁN DR.¹,
SOLTÉSZ PÁL DR.¹, SIPKA SÁNDOR DR.¹, KISS ATTILA DR.², UDVARDY MIKLÓS DR.²,
SZEGEDI GYULA DR.¹ és ZEHER MARGIT DR.¹

¹Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Általános Orvostudományi Kar,
Belgyógyászati Intézet, III. Belgyógyászati Klinika, Debrecen

²Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Általános Orvostudományi Kar,
Belgyógyászati Intézet, II. Belgyógyászati Klinika, Debrecen

A súlyos, terápiarefrakter poliszisztémás autoimmun kórképek kezelésében alternatíva lehet a nagy dózisú kemoterápia autológ őssejt-szupportációval. A szerzők saját kezdeti tapasztalataik ismertetését tűzték ki célul. *Eredmények:* A szerzők intézményükben 2006. augusztus és 2007. november között összesen 7 autoimmun beteg őssejt-transzplantációját végezték el: közülük kettő szisztémás lupus erythematosusban, négy rheumatoid arthritisben, egy pedig szisztémás sclerosisban szenvedett. Az őssejt-mobilizálás során cyclophosphamid + kolóniastimuláló faktor terápiát alkalmaztak, a kondicionáló kezelés nagy dózisú cyclophosphamid (200 mg/ttkg) + antithymocyt-globulin (9 mg/ttkg) protokoll szerint történt. A beadott őssejtek valamennyi betegnél sikeresen megtapadtak. Az egyik szisztémás lupus erythematosus miatt gondozott beteget a 46. napon fulmináns cytomegalovírus-infekció miatt elveszítették, a többieknél súlyos szövődmény nem lépett fel. Átlagosan 10 hónapos követésük során az alapbetegségük tartós remisszióba került, és az életminőségükben jelentős javulás következett be. *Következtetések:* Az autológ őssejtterápia biztonságosan és eredményesen alkalmazható a súlyos autoimmun betegségek válogatott eseteinek kezelésében is.

Kulcsszavak: autoimmun, rheumatoid arthritis, szisztémás lupus erythematosus, szisztémás sclerosis, nagy dózisú kemoterápia, autológ őssejt-transzplantáció

High dose chemotherapy followed by autologous CD34+ stem cell transplantation in the treatment of severe refractory polysystemic autoimmune diseases of the adults – the first experiences in Hungary. High dose chemotherapy followed by autologous stem cell support is a promising therapeutical approach in the treatment of severe refractory polysystemic autoimmune diseases. The *aim* of this study was to perform the authors' first experiences in this field. *Results:* Between August 2006 and November 2007 autologous stem cell transplantation was performed for seven patients: two of them had systemic lupus erythematosus, four of them had rheumatoid arthritis and one of them had systemic sclerosis. Cyclophosphamide plus colony stimulating factor were administered to mobilize stem cells. The conditioning protocol included high dose cyclophosphamide (200 mg/kg) and anti-thymocyte globulin (9 mg/kg). The re-infused stem cells were successfully engrafted by all patients. One of the lupus patients died on the 46th day due to a lethal cytomegalovirus infection, but the rest of them had no severe complications. Complete remission of their diseases and significant improvement in their quality of life were observed during a mean follow-up period of 10 months. *Conclusions:* Autologous stem cell therapy can be effectively administered in special cases of severe autoimmune disorders.

Keywords: autoimmune, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, high dose chemotherapy, autologous stem cell transplantation

(Bérezett: 2008. január 15.; elfogadva: 2008. június 9.)

Rövidítések

ANF = antinukleáris faktor; ARDS = adult respiratory distress syndrome (felnőttkori respirációs distressz-szindróma); ATG = antithymocyt-globulin; CMV = cytomegalovírus; CYC = cyclophosphamid; DAS =

disease activity score (betegségaktivitási pontrendszer); EBMT = European Bone Marrow Transplantation (európai csontvelő-transzplantáció); ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay (enzimhez kötött

immunoszorbens próba); ETT = Egészségügyi Tudományos Tanács; EULAR = European League Against Rheumatism (Európai Reumatológiai Egyesület); G-CSF = granulocytokolónia-stimuláló faktor; GSE = gluténszenzitív enteropathia; HLA = humán leukocyt-antigén; IVIG = intravénás immunglobulin; KIR = központi idegrendszer; Mtx = methotrexat; NK = natural killer (természetes ölő); RA = rheumatoid arthritis; SLE = szisztémás lupus erythematosus; SM = sclerosis multiplex; SSc = szisztémás sclerosis; TNF = tumornekrózis-faktor; WHO = World Health Organization (Egészségügyi Világszervezet)

A poliszisztémás autoimmun betegségek egyes formái a felnőtt lakosság 0,5–1%-át érintik, súlyos szervi szövődényeik miatt magas mortalitásúak. Etiológiájukban genetikai tényezők mellett hormonális és egyéb környezeti faktorok is szerepet játszanak. A patogenezis lényege, hogy az immunrendszer valamely tartósan fennálló regulációs zavar következtében saját antigénstruktúrákat idegenként ismer fel, s így gyulladási folyamatok generálódnak, különféle szervek károsodását eredményezve. Kórlefolysukra aktív és inaktív periódusok váltakozása jellemző, ami arra utal, hogy az agresszív és protektív tényezők arányai változhatnak. A kezelés során immunszuppresszív eljárásokat alkalmazva igyekszünk az autoreaktív folyamatokat visszaszorítani. E kezelési módok sok tekintetben átfedést mutatnak a malignus onkohematológiai kórképek gyógyításában alkalmazott tumorelles terápiával (például cyclophosphamid, methotrexat vagy újabban az anti-CD20 monoklonális antitestek). Az autológ őssejt-transzplantáció során a malignus sejtklont nagy dózisú myeloablatív kemoterápiával igyekeznek elpusztítani, majd a csontvelő a visszaadott saját őssejtek révén repopulálódik. Joggal merült fel, hogy a fenti eljárást lymphoablatív dózisban alkalmazva megszüntethető vagy legalábbis hosszú időre háttérbe szorítható lenne az autoimmun betegségeket jellemző immunregulációs zavar [1].

A fenti feltételezést az elmúlt évtizedben a klinikum is igazolta. A megfigyelések állatkísérletes adatokkal kezdődtek: adjuváns arthritisben szenvedő patkányok teljestest-besugárzást követő autológ őssejt-transzplantációval meggyógyultak [2]. Sporadikus esetek kapcsán számos szerző leírta már, hogy malignus lymphoma miatt transzplantált betegek társuló autoimmun betegsége (rheumatoid arthritis, SLE) a beavatkozást követően remisszióba került [3]. A gyógyulás hátterében az állt, hogy a kondicionáló kezelésként alkalmazott nagy dózisú kemoterápia a hibásan működő csontvelői eredetű sejteket elpusztította, majd a reinfundált CD34+ őssejtekből a megtapadás után adekvát haemopoiesis épült újra, és a lymphocyták ismét „sajátként” ismerték fel a korábban idegennek tekintett antigént (az úgynevezett „toleranciaindukció” jelensége). A kilencvenes évek közepétől egyre több transzplantációs centrum alkalmazott őssejtterápiát súlyos, terápiarefrakter autoimmun betegségek gyógyításában. A mortalitás kezdetben magas volt, amelyben az is közrejátszhatott, hogy nem volt precíz ajánlás a betegek kiválasztását illetően, és számos, már súlyos, végleges szervkárosodású és erősen előkezelt betegnél is elvégezték a beavatkozást [4]. Szűkítette a transzplantációra váró betegek körét az az öröndetes tény is, hogy az elmúlt évek során robbanásszerű fejlődés következett be a biológiai terápia terén, új

lehetőségek tárházát nyitva a gyógyításban. Itt elsősorban a rheumatoid arthritisre kell gondolnunk, amelynek kezelésében a már konvencionális methotrexat, leflunomid és cyclosporin mellett megjelentek a TNF-alfa-antagonisták (etanercept, infliximab, adalimumab) és egyéb monoklonális antitestek (anti-CD20) is [5].

A Debreceni Egyetem III. Belgyógyászati Klinikáján több mint három évtizede folyik a poliszisztémás autoimmun kórképekben szenvedő betegek gondozása. Joggal merült fel az igény, hogy egyes válogatott, hagyományos kezelésre nem reagáló esetekben őssejtterápiát alkalmazzunk. Mivel az eljárást Magyarországon még egyik transzplantációs centrumban sem alkalmazták ilyen indikációval, programunkhoz az Egészségügyi Tudományos Tanács engedélyét kértük és kaptuk meg (engedélyszám: 561/KO/2005.323-1/2005-1018EKU), a finanszírozást pedig alapítványi támogatással oldottuk meg. Célul tűztük ki az autológ transzplantáción átesett betegek klinikumának követését.

Betegek és módszerek

A betegek kiválasztása

A betegek őssejtterápiára való alkalmasságát a nemzetközi szakmai szervezetek (EULAR, EBMT, ASTIRA) szigorú követelményrendszere alapján bíráltuk el (1. táblázat). A legfontosabb szempontjaink azok voltak, hogy a betegség ne reagáljon semmiféle „hagyományos” kezelési módra, de még ne alakuljon ki semmiféle irreverzibilis szervi károsodás, amely a kezelést értelmetlenné tenné és/vagy kockázatát növelné. Összesen hét, közülük két szisztémás lupus erythematosus, négy rheumatoid arthritis és egy szisztémás sclerosis miatt gondozott beteget választottunk be programunkba, részletes felvilágosításukat és írásos beleegyezésüket követően. Öt beteg transzplantációja az ETT kutatási program keretében, míg két betegé már az Országos Egészségbiztosítási Pénztár által finanszírozott módon, a Nemzeti Felnőtt Őssejtterápiás Bizottság jóváhagyásával történt.

Őssejt-mobilizálás és kondicionáló kezelés

A mobilizáló kezelés során 2 g/m² dózisú cyclophosphamidot alkalmaztunk, mesna védelemben. Nyolc nappal a kemoterápia után G-CSF (filgrastim) adását kezdtük 10 µg/ttkg dózisban. Ezt követően ellenőriztük a perifériás vérben keringő CD34+ haemopoieticus őssejtek számát, és ha az meghaladta a 20/µl értéket, hozzákezdünk az őssejtgyűjtéshez. A gyűjtést Baxter Fenwal CS 3000 plus, illetve Amicus típusú aferéziskészülékekkel végeztük, a centrális véna kanülálása útján. Célunk minimum 2,5 × 10⁶/ttkg mennyiségű CD34+ őssejt nyerése volt, amelyet aztán hat beteg esetén szelekció nélkül, –195 °C-on fagyasztottunk le

1. táblázat Bevásztási és kizárási kritériumok SLE, RA, illetve SSc esetén

Bevásztási kritériumok

Szisztémás lupus erythematosus

- Az American College of Rheumatology (ACR) diagnosztikai kritériumai által megállapított biztos SLE.
- A WHO besorolása szerinti III. és IV. típusú glomerulonephritis, ha az nem kontrollálható rövid kezelési protokoll szerint adott cyclophosphammiddal.
- A tüdő- és/vagy a szívparenchyma károsodása szöveteileg igazolt vasculitis következtében, ha ez iv. cyclophosphamidra nem javul.
- Cerebritis vagy myelitis transversa, amelyek iv. cyclophosphamidra nem javulnak.
- Súlyos refrakter autoimmun cytopenia, amely standard dózisu kezelésre nem reagál.
- Katasztrófa antifoszfolipid szindróma.

Rheumatoid arthritis

- A betegnél az ACR klasszifikációs kritériumrendszere alapján RA igazolható.
- Aktív betegség:
- 6 vagy több duzzadt ízület (28 ízületből),
- 6 vagy több nyomásérzékeny ízület (28-ból),
- > 1 óra reggeli ízületi merevség,
- We > 28 mm/h vagy CRP > 20 mg/dl.
- Nincs megfelelő válasz 25 mg methotrexatra (mtx) vagy napi 20 mg leflunomidra.
- Legalább 4 bázisterápiás próbálkozás (mtx, leflunomid, kombináció és anti-TNF-alfa hatású szer).
- 65 év alatti életkor.

Szisztémás sclerosis

- 16–60 éves kor (maximum 65 év, ha a biológiai kor jobb).
- Az ACR-kritériumok által diagnosztizált beteg.
- Diffúz scleroderma, ahol az első tünetek jelentkezése óta kevesebb mint 4 év telt el + a modifikált Rodman skin score > 15 + belső szervi manifesztáció, amely a megelőző 6 hónapban romlott:
- FVC és/vagy DLCO < 70% és interstitialis pulmonalis betegség HRCT-vel vagy bronchoalveolaris lavage-zsal igazolva;
- myocardiumérintettség: terápiát igénylő arrhythmia, cardiomegalia, közepes vagy súlyos mennyiségű pericardialis folyadék, balten-gely-deviáció az EKG-n;
- proteinuria > 500 mg/24 óra vagy a szérumkreatinin > mint a normális érték felső határa.
- Kisebb kiterjedésű bőrtünetek, de rövid idő alatt szisztémássá váló, progresszív betegség: diffúz cutan SSc < 2 éves fennállás a bőr-tünetek első megjelenésétől számítva + a modifikált Rodman skin score > 20 + a törzs bőrének érintettsége.

Kizárási kritériumok

- Abszolút neutrophilszám < 2000/μl.
- Thrombocytaszám < 120000/μl.
- 70 év feletti életkor.
- 3,0 mg/dl feletti szérumkreatinin-szint.
- 45%-nál kisebb ejekciós frakció echokardiográfia során, malignus ritmuszavar, NYHA IV. stádiumú szívelégtelenség.
- Társuló malignus kórkép.
- Infekció.
- Légzési elégtelenség.
- Májfunkcióromlás.

a sejterápiás laboratóriumban. Az SSc miatt kezelt beteg esetén, az irodalmi adatokkal összhangban, a graftot CD34-szelekciós eljárással manipuláltuk. A sejtek viabilitását tripan-kékfestéssel ellenőriztük.

Az autológ transzplantációra az őssejtgyűjtés után leghamarabb 6-8 héttel kerülhetett sor. Előtte kötelező szűrővizsgálatokkal győződünk meg arról, hogy a betegnek nincs semmiféle rejtett infektív góca. A kondicionáló kezelés során 200 mg/ttkg cyclophosphamidot (50 mg/ttkg/nap a -5-től a -2. napig) és 9 mg/ttkg antithymocyt-globulint (3 mg/ttkg/nap a -3., -2. és +2. napokon) alkalmaztunk. A beteget a peritranszplantációs időszakban egyágyas, „steril” kórteremben helyeztük el, és primer prevenciók céllal antibiotikus, antifungális és antivirális kezelést alkalmaztunk, az őssejtek megtapadását filgrastim adásával segítettük elő.

Az immunrendszer regenerációjának és az aktivitási tüneteknek a vizsgálata

Az őssejtviisszaadást követően a megtapadásig naponta ellenőriztük a teljes fehérvérsejtszámot, majd az abszolút neutrophil- és lymphocytaszámot. Az SLE-s férfi betegnél SLE disease activity indexet (SLEDAI-score) számoltunk közvetlenül a transzplantáció előtt, majd a +30., 60., 90. és 150. napon. A figyelembe vett paraméterek: idegrendszeri tünetek, vasculitis, myositis, arthritis, vizeleteltérések, bőr- és nyálkahártya-eltérések, serositisek, hematológiai eltérések, láz, hypocomplementaemia és anti-DNA-antitest. A rheumatoid arthritises betegek esetén a DAS-28-nak nevezett aktivitási indexet követtük. Ennek során 28 ízület fizikális vizsgálata során számoltuk meg a duzzadt és nyomásérzékeny ízületeket, ezen paraméterek és a vörösvérsejt-süllyedés segítségével állapítható meg a DAS-28. A sclerodermás beteg esetén a modifikált Rodnan skin score-t ellenőriztük. Autoantitest-vizsgálatokra az SLE-s férfi betegnél és a szeropozitív RA-s betegekénél volt lehetőség. Az antinukleáris faktort (ANF) indirekt immunfluoreszcencia, míg a reumafaktort és a ketős szálú DNS ellen termelt antitestet (aDNA) ELISA-módszerrel határoztuk meg.

Eredmények

Esetismertetések

A 2006. március–2007. november közötti időszakban összesen 7 betegnél alkalmaztunk őssejterápiát, kórtörténetüket az alábbiakban foglaljuk össze:

Első beteg

A 34 éves férfi anamnézisében 1996 óta ismertek a szisztémás lupus erythematosus szervi manifesztációi: WHO IV. stádiumú lupus nephritis, epilepszia, csontvelő-elégtelenség. Immunszerológiai eltérések: ANF- és anti-DNA-pozitivitás.

1998-ban Dapson- és szteroidkezelés indult. 2001-től cyclosporint kapott, amelyet romló vesefunkciós eredményei miatt le kellett állítani. Bolus parenteralis cyclophosphamidkezelés mellett is progrediált a veseelégtelensége, emiatt merült fel az őssejterápiás szükségessége. 2006. áprilisban összesen $2,86 \times 10^6$ /ttkg CD34+ sejtet sikerült gyűjtenünk és lefagyasztanunk. A kondicionáló kezelést követően az őssejteket 2006. szeptember 4-én adtuk vissza. A megtapadás a 9. napon következett be, a neutropeniás napok szövődmény nélkül teltek el. A beteget a 23. napon bocsátottuk otthonába. A peritranszplantációs időszak eseménymentes volt, a páciens már túl van az 1 éves kontrollon. Általános fizikai állapota kitűnő, a veseelégtelenség progressziója megállt, a fehérjeürítés tekintetében jelentős javulás észlelhető. Autoantitest-pozitivitás jelenleg nem észlelhető, így alapbetegsége inaktívnak tekinthető. Immunszuppresszív kezelésként most kis dózissal alternáló (0,1 mg/ttkg/másnaponta) methylprednisonolt kap.

Második beteg

A 28 éves, fiatal nőbetegnél 10 éves korában szisztémás lupus erythematosus igazolódott, klinikánk 2004-ben vette gondozásba. Alapbetegségének manifesztációi: központi idegrendszeri érintettség (epilepszia), lupus nephritis (fokális szegmentális glomerulosclerosis), erosív polyarthritis, serositisek, ujjbegyvasculitis, enyhe fokú cytopenia. Terápiás próbálkozások történtek nagy dózissal szteroiddal, cyclophosphamiddal, azathioprinttel, cyclosporinnal, de vesefunkciói romlottak (csökkenő GFR, fokozódó fehérjeürítés), epileptiform görcsei is halmozottan jelentkeztek. 2006 elején merült fel a nagy dózissal kemoterápia + autológ őssejt-szupportáció szükségessége az alapbetegség terápiarefrakteritása miatt. 2006. márciusban sikeres őssejtgyűjtést végeztünk, összesen $5,7 \times 10^6$ /ttkg CD34+ sejtet sikerült nyernünk és lefagyasztanunk. A negatív eredménnyel végződő góckutatások után az autológ őssejt-transzplantációra 2006. augusztusban került sor, a sejteket a beteg augusztus 7-én kapta vissza. A megtapadás a 11. napon következett be. A neutropeniás időszakban fertőzések szövődmény nem lépett fel, kiterjedt bőrvérzések miatt nagy volt a transfúziós igénye. A +24. napon jó vérképpel, kielégítő vesefunkciókkal engedték otthonába. A 30. napos kontroll során jó általános állapotot észleltünk. A 38. napon akutan vettük fel lázas állapot miatt, a laboratóriumi vizsgálatok során súlyos pancytopeniát észleltünk, illetve a cytomegalovirus early antigénvizsgálat masszív pozitivitást mutatott. (A transzplantáció előtt elvégzett CMV-szerológiai vizsgálatok során csak az IgG-antitest bizonyult pozitívnek, amely az akut vírusfertőzést kizárta.) A beteg állapota gyorsan hanyatlott, légzési elégtelenség lépett fel, gépi lélegeztetésre szorult. A CMV-fertőzés oki kezelésére gancyclovirt és intravénás immunoglobulint kapott, sikertelenül: a 46. napon ARDS miatt meghalt. Halálát fulmináns CMV-fertőzés okozta, amely autológ őssejt-transzplantáció után igen ritka szövődmény.

Harmadik beteg

Az 59 éves, igen jó biológiai korú nőbetegnél 1999 óta ismert szeronegatív rheumatoid arthritis. Az összes lehetséges bázisterápiás szerrel történt próbálkozás – methotrexat, leflunomid, cyclosporin, sulfasalazin, újabban etanercept –, de remissziót csak rövid időszakokra sikerült elérni. Az utolsó időszakban alapbetegsége folyamatosan aktív volt, szteroid adására szorult, amit a beteg nehezen tolerált. 2006. júniusban végeztük el a mononukleárissejt-aferezist, összesen $6,1 \times 10^6$ /ttkg CD34+ sejtet gyűjtöttünk. A transzplantációt 2006. november 22-én végeztük el. A csontvelő a +8. napon tapadt meg, szövödmény nem volt. A 19. napon tudtuk otthonába bocsátani. 2007. januárban lumbalis csigolya-összeroppanás miatt kellett hospitalizálni, de ezt a korábbi tartós szteroidkezelés, és nem a transzplantáció szövödményének tartottuk. A 60. napos kontroll során mérsékelt ízületi gyulladáshoz vezetett, ekkor adalimumab TNF-alfa-antagonista-terápiát indítottunk. Betegsége azóta remisszióban van.

Negyedik beteg

Az 52 éves nőbeteg szeronegatív rheumatoid arthritisre 1986 óta ismert, az azóta eltelt 20 évben bázisterápiaként aranykezelést (nátrium-thiomalat), methotrexatot, leflunomidot, cyclosporint kapott, sőt plazmaferézissel is próbálkoztunk, átmeneti eredménnyel. 2001-ben sclerosis multiplex igazolódott, emiatt az anti-TNF-alfa kontraindikált. Az utóbbi hónapokban betegsége folyamatosan aktív volt. 2006. májusban történt meg az őssejtgyűjtés ($3,4 \times 10^6$ /ttkg CD34+ sejt). A transzplantációt krónikus cholecystitise miatt halasztani kellett, a gócot laparoszkopos cholecystectomy útján eltávolítottuk. Őssejtjeit 2007. január 15-én adtuk vissza. A 4. napon lázas állapot, septicotoxicus sokk tünetei jelentkeztek, de állapotát széles spektrumú antibiotikum (meropenem, vancomycin), intravénás immunglobulin adásával és folyadékpótlással sikerült rendezni. A csontvelő működése a +9. napon indult be. A 18. napon jó általános állapotban engedték otthonába. A korábban igen aktív alapbetegségű, súlyo-

san mozgáskorlátozott nő állapota a transzplantáció óta drámaian javult, ízületi gyulladáshoz vezető tünetei megszűntek. Fenntartó kezelésként jelenleg napi 20 mg leflunomidot kap.

Ötödik beteg

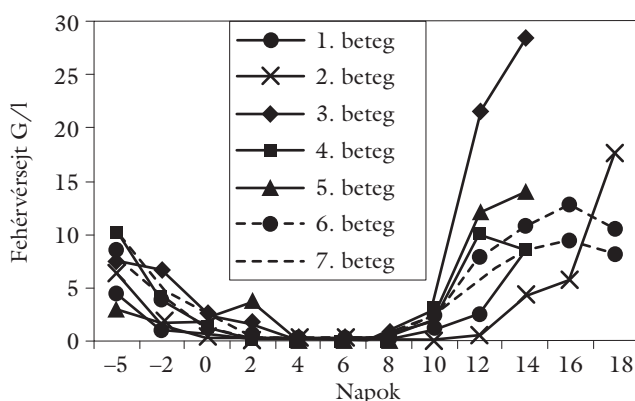
Az 53 éves nőbeteg 1993 óta gondozza klinikánk Sjögren-szindróma miatt, majd 1999-ben szeropozitív rheumatoid arthritis is igazolódott. Az összes lehetséges bázisterápiás szer (methotrexat, leflunomid, cyclosporin) megpróbáltuk, újabban TNF-alfa-antagonista etanerceptet és adalimumabot is kapott, de ízületi panaszai mindemellett progressziáltak. 2006. decemberben összesen 7×10^6 /ttkg CD34+ sejtet gyűjtöttünk. A transzplantációt 2007. február 19-én végeztük el, szövödmény a neutropeniás napok alatt nem volt. A 19. napon engedték otthonába. Fenntartó kezelésként napi 20 mg leflunomidot kap – elsősorban a transzplantáció biztosította ízületi inaktivitás tartósítására.

Hatodik beteg

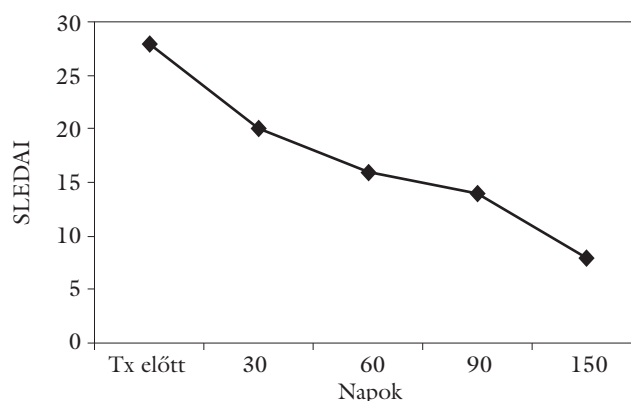
A 63 éves nőbetegnél 2002-ben igazolódott a progresszív szisztémás sclerosis diffúz formája. Az eltelt évek során súlyos belső szervi – tüdő, nyelőcső, vese – manifesztáció nem alakult ki, ám bőrtünetei progresszíven romlottak. A pentoxifyllin-, prostacyclin-, kolchicin- és plazmaferézis-kezelések hatástalannak bizonyultak. 2007. májusban a mobilizáló kezelést követően összesen 17×10^6 /ttkg CD34+ őssejtet sikerült gyűjtenünk. A visszaadásra 2007. október 2-án került sor, a megtapadás szövödmény nélkül következett be. A 60. napos kontroll során a bőrtünetek regresszióját észleltük, a modifikált Rodnan skin score 43-ról 33-ra csökkent.

Hetedik beteg

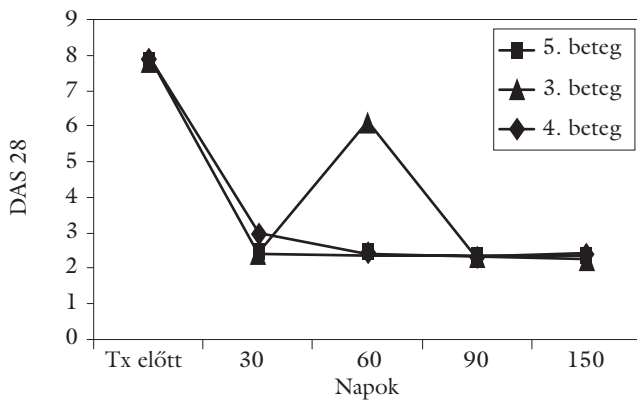
Az 51 éves nőbeteg szeropozitív rheumatoid arthritisre 2000-ben derült ki. 2001-től methotrexatot, majd 2002-től chloroquint, 2004-től sulfasalazint, 2005-től leflunomi-



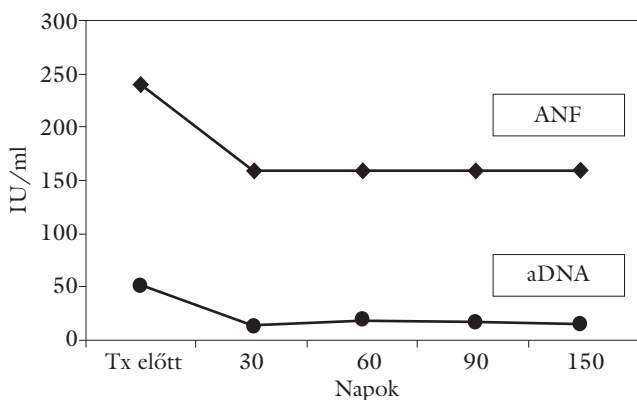
1. ábra Fvs-szám (G/l) alakulása a transzplantációs kórteremben



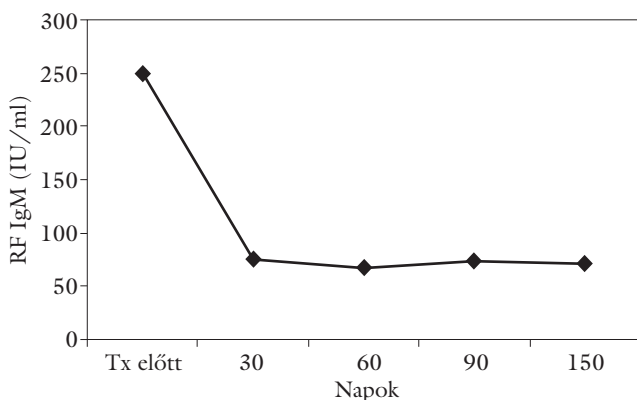
2. ábra Az 1. beteg SLEDAI értékeinek alakulása



3. ábra Az RA miatt követett nőbetegek DAS-28 értékeinek alakulása



4. ábra Az 1. beteg autoantitest-titerének alakulása



5. ábra Az 5. beteg reumafaktor-titerének változása

dot alkalmaztunk, tartós eredmény nélkül. 2006-tól anti-TNF-alfa hatású adalimumabkezelést kapott, de egy év elteltével ízületi tünetei aktiválódtak. Az őssejtgyűjtést 2007. júliusban végeztük el, összesen 30×10^6 /ttkg CD34+ sejtet sikerült nyernünk. Az őssejt-transzplantációra nem sokkal a publikáció megírása előtt, 2007. november 20-án került sor, a korai időszakban szövődményt vagy az alapbetegség relapsusát nem észleltük.

Az aktivitási tünetek ellenőrzése

Az őssejtek megtapadása, amelyet a fehérvérsejtszám emelkedése jelzett, a transzplantációt követő 9–12. napon következett be (1. ábra).

Az őssejtterápiát követően az SLE-s férfi beteg esetén a SLEDAI-érték, míg a rheumatoid arthritises nőbetegeknél a DAS-28 drámai csökkenését észleltük (2. és 3. ábra).

1. betegünk esetén az ANF és az aDNA, míg az 5. beteg esetén a reumafaktor titer csökkent lényegesen a transzplantációt követően (4. és 5. ábra).

Megbeszélés

A terápiarezisztens autoimmun betegek körében végzett autológ őssejtátültetéssel kapcsolatos tapasztalatok egyre gyűlnek. Tyndall és mtsai 2005-ben megjelent összefoglaló közleményükben mintegy 700, primeren autoimmun betegség miatt transzplantált betegről tudósítanak. A beavatkozásokat az egyes centrumok I–II. fázisú tanulmányok keretében végezték [6]. Kondicionáló kemoterápiaként döntően nagy dózsisú cyclophosphamidot plusz antithymocyt-globulint vagy teljes test-irradiációt alkalmaztak. A legkedvezőbb tapasztalatokat a sclerosis multiplex esetén nyerték: az esetek mintegy 60%-ában a betegség progressziója megállt, 35%-ban pedig tartós javulás következett be [7, 8]. Hasonlóan jó arányokat észleltek SLE és szisztémás sclerosis esetén is [9, 10, 11]. A rheumatoid arthritiseseknél a remisszió időszaka rövidebb volt, ám ez is jó néhány „megnyert” életvet jelentett a betegek számára [12]. Az ígéretes eredményekre tekintettel III. fázisú, nagy betegcsoporton végzett multicentrikus összehasonlító vizsgálatok kezdődtek [13, 14].

Az egyre gyűlő tapasztalatok ellenére az őssejtterápiás eljárással kapcsolatban még mindig számos dilemma felmerül. Nem tisztázott, hogy manipulálatlan vagy „tisztított” (CD34-szelektált) graftot érdemes visszaadni a betegnek. A CD34-szelektáció hívei azzal érvelnek, hogy a manipulálatlan graft számos autoreaktív T-lymphocytát tartalmazhat, így a transzplantációt követően a relapsus veszélye nagy. Ugyanakkor rheumatoid arthritises betegeken elvégzett két-karú vizsgálat során megállapították, hogy a manipulálatlan graftot visszakapók körében a tartós remisszióba kerültek aránya nem különbözött a CD34-szelektált csoport eredményeitől, és a megtapadás is rövidebb idő alatt következett be [15]. Magunk az RA-s és az SLE-s betegek graftját nem manipuláltuk, az SSc-s beteg esetén viszont CD34-szelektációt alkalmaztunk. A másik probléma a kondicionáló kezelés kérdése: Lymphoablatív vagy myeloablatív kemoterápiát kell-e alkalmazni? A lymphoablatív kezelés a myeloid sejtvonalat jobban megkíméli, így a beteg számára kisebb terhet jelent, a szövődmények aránya kisebb. A myeloablatív kemoterápiás protokoll hívei viszont arra hivatkoznak, hogy annak alkalmazásával az autoreaktív folyamatok kialakulásában szintén szerepet játszó innate immunitás is teljesen kiiktatható. E kérdések eldöntésére még több tapasztalat, illetve összehasonlító tanulmányok készítése szükséges [16, 17].

2. táblázat Klinikánkon autológ őssejt-transzplantáción átesett betegek legfontosabb klinikai adatai (n = 7)

Beteg, nem, életkor	1. beteg, férfi, 34 éves	2. beteg, nő, 28 éves	3. beteg, nő, 59 éves	4. beteg, nő, 52 éves	5. beteg, nő, 53 éves	6. beteg, nő, 63 éves	7. beteg, nő, 51 éves
Diagnózis, manifesztációk	SLE + GSE (KIR, vese, csontvelő)	SLE (KIR, vese, csontvelő, ízület)	RA	RA + SM	RA + Sjögren-szindróma	SSc	RA
Korábbi kezelések	szteroid CYC cyclosporin	szteroid azathioprin cyclosporin	Mtx leflunomid cyclosporin etanercept	Mtx leflunomid cyclosporin plazmaferézis	Mtx leflunomid cyclosporin etanercept adalimumab	D-penicillamin kolchicin, plazmaferézis	Mtx leflunomid chloroquin sulfasalazin adalimumab
Gyűjtés időpontja	2006. május 11.	2006. március 21.	2006. június 20.	2006. május 25.	2006. december 16.	2007. május 30.	2007. július 24.
Őssejtmennyiség	2,8 × 10 ⁶ /ttkg	5,7 × 10 ⁶ /ttkg	6,1 × 10 ⁶ /ttkg	3,4 × 10 ⁶ /ttkg	7 × 10 ⁶ /ttkg	17 × 10 ⁶ /ttkg	30 × 10 ⁶ /ttkg
Tx időpontja	2006. szeptember 4.	2006. augusztus 7.	2006. november 22.	2007. január 15.	2007. február 19.	2007. október 2.	2007. november 20.
Szövődmény a tx-et követően	engraftment szindróma	vérzések vese-elégtelenség	engraftment szindróma	szepszis	nem volt	nem volt	engraftment szindróma
Megtapadás napja	9	11	8	9	9	9	9
Szövődmény a 100. napig	thrombocytopenia	fulmináns CMV-fertőzés	csigolyafractura, myelitis transversa?	nem volt	nem volt	nem volt	nem volt
Szövődmény kezelése	szteroid IVIG	gancyclovir IVIG	calcitonin tüneti	meropenem vancomycin	–	–	–
Fenntartó terápia	szteroid (0,1 mg/ttkg)	–	adalimumab	leflunomid 20 mg/nap	leflunomid 20 mg/nap	–	methotrexat 7,5 mg/hét
Jelen állapot	R	E	R	R	R	R	R

E = exitus lethalis; R = remisszió; Tx = autológ haemopoeticus őssejt-transzplantáció

Az általunk alkalmazott cyclophosphamid + ATG protokoll lymphoablátív jellegű volt.

A visszaadott őssejtek a 8–11. napon „tapadtak meg”, amit számunkra a fehérvérsejtszám drámai emelkedése jelezte a neutrophilszám gyors normalizálódásával. Irodalmi adatok alapján a lymphocytaszubpopulációk közül elsőként a CD56 + NK-sejtek jelennek meg nagy számban a periférián, majd időben őket követik a CD3+ T-sejtek, amelyek jelentős számban hordoznak aktivációs sejt felszíni markereket (HLA-DR, CD69). A CD45RA+ naiv T-sejtek regenerációja thymusdependens folyamat, emiatt figyelhető meg kezdetben ezen sejtek háttérbe szorulása a memóriasejtekkel szemben. A B-sejtek arányának normalizálódása 2–3 hónapot is igénybe vesz [18, 19].

A nagy dózisos kemoterápia legsúlyosabb szövődménye az infekció, a vérzés és az egyes szerveket érintő toxicitás. Betegeink körében egy alkalommal észleltünk a megtapadás előtt, egy alkalommal pedig a megtapadást követően súlyos fertőzést. Az előbbi Gram-pozitív szepszis volt, amely széles spektrumú antibiotikumadásra meggyógyult. Az utóbbi sajnos fatális kimenetelű cytomegalovírus-fertőzés volt, amely lymphoablátív kondicionálást követő autológ transzplantáció után irodalmi ritkaságnak tekinthető. (Éppen emiatt, rutinszerű valgancyclovirprofilaxis adását nem is ajánlják.) Vérzé-

ses és toxikus szövődményünk a megfelelő szupportációnak – mesna, transzfúziók – köszönhetően nem volt.

Hosszabb távú (> 9 hónap) követésre négy betegünk esetén nyílt lehetőség, mindegyiküknél tartós remisszió figyelhető meg. Betegségük aktivitásának ellenőrzésére a SLEDAI, illetve a DAS-28 pontrendszert alkalmazzuk. Két beteg – akiknek szérumban korábban autoantitest volt kimutatható – titerének normalizálódását figyeltük meg a transzplantáció után.

Eredményeink ismeretében kívánatosnak tartjuk, hogy a jövőben megfelelő indikációval kiválasztott betegeknél, akiknek betegsége más módszerrel nem kezelhető, az autológ őssejt-transzplantáció Magyarországon is hozzáférhetővé váljon mint rutin terápiás eljárás. Őssejterápiás programunk jelenleg is folytatódik, évente 5–10 beteg transzplantációját tervezzük.

Irodalom

- [1] *McSweeney, P. A., Nash, R. A., Storb, R. és mtsai:* Autologous stem cell transplantation for autoimmune diseases: issues in protocol development. *J. Rheumatol.*, 1997, 24 (Suppl. 48), 79–84.

- [2] *Knaan-Shanzer, S., Houben, P., Kinwel-Bobre, E. P. M. és mtsai*: Remission induction in adjuvant arthritis in rats by total body irradiation and autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.*, 1992, 9, 1–3.
- [3] *Nelson, J. L., Torrez, R., Louie, F. M. és mtsai*: Pre-existing autoimmune disease in patients with longterm survival after allogeneic bone marrow transplantation. *J. Rheumatol.*, 1997, 24 (Suppl. 48), 23–29.
- [4] *DeBuys, P., Khanna, D., Furst, D. E.*: Hemopoietic stem cell transplantation in rheumatic diseases – an update. *Autoimmun. Rev.*, 2005, 4, 442–449.
- [5] *Lee, S. J., Kavanaugh, A.*: Biologic agents in rheumatology: safety considerations. *Rheum. Dis. Clin. North. Am.*, 2006, 32 (Suppl. 1), 3–10.
- [6] *Tyndall, A., Saccardi, R.*: Haematopoietic stem cell transplantation in the treatment of severe autoimmune disease: results from phase I/II studies, prospective randomized trials and future directions. *Clin. Exp. Immunol.*, 2005, 141, 1–9.
- [7] *Blanco, Y., Saiz, A., Carreras, E. és mtsa*: Autologous haematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. *Lancet Neurol.*, 2005, 4, 54–63.
- [8] *Ni, X. S., Ouyang, G., Zhu, W. H. és mtsai*: Autologous hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis: report of efficacy and safety at three year of follow up in 21 patients. *Clin. Transplant.*, 2006, 20, 485–489.
- [9] *Braun-Moscivivi Y., Furst D. E.*: Stem cell therapy in scleroderma. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2002, 14, 711–716.
- [10] *Jayne, D.*: Stem cell transplantation in systemic lupus erythematosus. *Best Practice Reserch Clin. Haematol.*, 2004, 17, 291–304.
- [11] *Talaulikar, D., Tymms, K. E., Prosser, I. és mtsa*: Autologous peripheral blood stem cell transplantation with in vivo T-cell depletion for life threatening systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 2005, 14, 159–163.
- [12] *Snowden, J.*: Autologous hematopoietic stem cell transplantation in severe rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 2004, 31, 482–488.
- [13] *Illei, G. G.*: Hematopoietic stem cell transplantation in autoimmune diseases: is the glass half full or half empty? *Arthritis Rheum.*, 2006, 54, 3730–3734.
- [14] *Tsakamoto, H., Nagafuji, K., Horiuchi, T. és mtsai*: A phase I–II trial of autologous peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of refractory autoimmune disease. *Ann. Rheum. Dis.*, 2006, 65, 508–514.
- [15] *Tyndall, A., Leblanc, K.*: Stem cells and rheumatology: update on adult stem cell therapy in autoimmune diseases. *Arthritis Rheum.*, 2006, 55, 521–525.
- [16] *Burt, R. K., Marmont, A., Oyama, Y. és mtsai*: Randomized control trials of autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune disease – the evolution from myeloablative to lymphoablative transplant regimens. *Arthritis Rheum.*, 2006, 54, 3750–3760.
- [17] *Burt, R. K., Traynor, A., Statkute L. és mtsai*: Nomyeloablative hematopoietic stem cell transplantation for systemic lupus erythematosus. *JAMA*, 2006, 295, 527–535.
- [18] *Novitzky, N., Davison, G. M., Hale G. és mtsa*: Immune reconstitution at 6 months following T-cell depleted hematopoietic stem cell transplantation is predictive for treatment outcome. *Transplantation*, 2002, 74, 1551–1559.
- [19] *Steingrimsdottir, H., Gruber, A., Björkholm M. és mtsai*: Immune reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation in relation to underlying disease, type of high-dose therapy and infectious complications. *Haematologica*, 2000, 85, 832–838.

(Váróczy László dr.,
 Debrecen, Móricz Zs. krt. 22., 4032
 e-mail: laszlo.varoczy@freemail.hu)