

Jerzy Hołowiecki

Transplantacja szpiku w erze leczenia ukierunkowanego molekularnie

W okresie gdy na początku lat 60-tych rozpoczynałem pracę jako lekarz, pediatra amerykański Donald Pinkel rzucił wyzwanie białaczkom ogłaszając erę „totalnej terapii”, jako jedyne sposoby pokonania tej grupy nowotworów. Słuszność koncepcji radykalnej chemio-radioterapii potwierdziły doniesienia o wyleczeniach białaczek limfoblastycznych u dzieci. Pobudziło to do prac nad podobnymi programami leczenia dorosłych, zarówno z białaczkami szpikowymi (AML), jak i limfoblastycznymi (ALL). Są one nadal prowadzone przez grupy robocze, które na podstawie wyników badań klinicznych selekcjonowały kolejne, najlepsze sposoby leczenia, wzbogacane o nowe osiągnięcia nauki. Takimi ważnymi elementami było doskonalenie badań cytochemicznych i cytogenetycznych, wprowadzenie w latach 70-tych badania receptorów błonowych, w 80-tych badań immunofenotypu przeciwciałami monoklonalnymi, a w ostatnich latach zastosowanie kompleksowych badań cytogenetycznych i molekularnych.

W stopniowym doskonaleniu metod leczenia białaczek ma udział również polska grupa badawcza PALG, która w okresie od 1980 – 2008 roku wprowadziła wiele oryginalnych programów leczenia ostrych białaczek szpikowych (np. DAC, CLAG) i limfoblastycznych (ryc.1). Był to wynik wielośrodkowej współpracy opartej na przyjaźni i serdecznych stosunkach ludzi żyjących problemami hematologicznymi. Osobiście bardzo ciepło wspominam kontakty z Kliniką Hematologii UM w Warszawie kierowaną teraz przez prof. Jędrzejczaka, a wcześniej przez prof. Zofię Kuratowską, z Instytutem Hematologii i w ogóle z Warszawą, bo przecież tu się urodziłem...Bardzo duży intelektualny wkład w prace PALG mają również kierownicy innych ośrodków kierujący sekcjami lub badaniami, profesorowie Andrzej Hellmann, Tadeusz

Robak, Aleksander Skotnicki, Krzysztof Warzocha, Lech Konopka, Janusz Meder, Jan Walewski i wielu innych, bardzo mi bliskich.

W programie DAC dla ostrych białaczek szpikowych, dzięki dodaniu cladrybiny (2-CDA) do cytarabiny i daunorubicyny uzyskuje się zwiększenie stężenia Ara-CTP w komórkach białaczkowych, co jak wykazaliśmy prospektywnym badaniem u 400 chorych, poprawia wyniki leczenia indukującego i wydłuża czas przeżycia (ryc.2). Program ten opisany w *Leukemia*, uzyskał wysokie oceny, a jego elementy zostały wykorzystane, m. in. przy tworzeniu programów niemieckiej grupy pediatrycznej .

Do leczenia białaczek limfoblastycznych opracowano w ramach PALG dwa oryginalne programy:

- 1) Program z sekwencyjnym podawaniem G-CSF - dostosowanym do cytokinetyki, który umożliwia osiągnięcie remisji bez zagrażającej życiu fazy ciężkiej neutropenii.
- 2) Program PALG5-2007 oparty na dostosowywaniu leczenia do wielkości resztkowej choroby nowotworowej-MRD. Najważniejszym osiągnięciem grupy stało się jednak trwałe podniesienie poziomu leczenia białaczek w Polsce.

Na początku lat pięćdziesiątych ponad 70% pacjentów z AML i prawie 90% z ALL uzyskiwało całkowitą remisję. Głównym problemem było jednak występowanie nawrotów choroby, co powodowało niskie wskaźniki całkowitego przeżycia. U osób młodszych najlepszym rozwiązaniem było zastosowanie transplantacji szpiku, która zaczęła być stosowana jako procedura lecznicza od połowy lat 70-tych. Dla osób starszych ta opcja była niedostępna, a trzeba pamiętać, że zachorowalność na białaczki i inne nowotwory hematologiczne wyraźnie rośnie z wiekiem i mediany mieszczą się między 52-70 rokiem życia. Duże analizy przeżycia chorych z ostrą białaczką szpikową, z okresu 2000-2004 wykazują, że 5-letnie przeżycia dla osób dorosłych do 34

roku życia wynoszą 50%, dla przedziału 35-54 lata 35%, dla 55-65 letnich niespełna 20%, a u starszych są rzędu 5-10% (ryc.3).

Dlatego równocześnie z transplantologią rozwijały się na świecie inne obiecujące kierunki. Intensywne badania cytogenetyczne i molekularne zmierzały do wynalezienia leków dopasowanych selektywnie do choroby. Udowodniły one, że białaczki wykazujące w chwili zachorowania bardzo podobne objawy kliniczne i cytomorfologiczne, okazują się być z punktu widzenia genetyczno-molekularnego innymi chorobami. Znalazło to odbicie w ewolucji diagnostyki białaczek (ryc.4, 5), czego najlepszym dowodem jest ostatnia czwarta edycja klasyfikacji WHO. Rosły więc wątpliwości, czy tak bardzo różniące się choroby powinno się nadal leczyć „totalną terapią”. Towarzyszyła temu rosnąca nadzieja na wynalezienie selektywnych sposobów leczenia dostosowanych do zidentyfikowanych już zaburzeń genetyczno-molekularnych. Pozostawała ona jednak niespełniona do końca lat 80 -tych, gdy wykryto, że przyczyną białaczki promielocytowej jest wadliwa budowa receptora dla retinoidów, spowodowana kodującym jego składniki onkogenem PML/RAR alpha powstałym wskutek translokacji t(15:17). Wkrótce potem wprowadzono do leczenia tej choroby kwas all-trans-retynowy –ATRA. Było to oparte na wcześniejszych doświadczeniach medycyny chińskiej, gdzie choroba ta jest wielokrotnie częstsza niż w Europie i stanowiło przełom w onkologii. Udowodniona została bowiem możliwość doraźnego opanowania choroby bez „totalnej wojny”, a na zasadzie selektywnego działania. Komórki nowotworu pod wpływem silnego stężenia ATRA dojrzewały i zamieniały w granulocyty.

Drugim przełomowym wydarzeniem było wprowadzenie na początku XXI wieku do leczenia przewlekłej białaczki szpikowej (CML) imatinibu i innych inhibitorów kinazy tyrozynowej, które blokują patologiczną kinazę będącą produktem genu fuzyjnego bcr/abl, powstałego przy translokacji t(9:22). Sukces tego leczenia pobudził do prób znalezienia podobnych leków dla innych

białaczek (ryc.6), a równocześnie zahamował stosowanie transplantacji szpiku do leczenia CML. Stało się jasne, że żyjemy w erze rozwoju selektywnych metod leczenia i trzeba będzie nieustannie korygować dotychczasowe strategie dając chorym najlepszą w danej chwili opcję terapeutyczną.

Aktualnie, bardzo ważna jest odpowiedź na pytanie, jakie jest miejsce i wskazania do transplantacji szpiku w 2008 roku i czy konieczne są wysiłki dla zwiększenia liczby transplantacji, jeśli weźmie się pod uwagę postęp w wynajdywaniu leków do terapii celowanej?

Leki ukierunkowane molekularnie (ryc.6) mogą być na ogół stosowane u osób starszych, co jest ich ważną zaletą. Nie zapewniają jednak całkowitego i trwałego wyleczenia, trzeba je zwykle stosować przez całe życie, może się rozwinąć oporność, są kosztowne, mogą interferować z innymi lekami i powodować objawy uboczne, czasem dopiero po dłuższym czasie.

Transplantacja szpiku stanowi nadal jedyną metodę umożliwiającą wyleczenie wielu białaczek i innych nowotworów i to jest jej główną zaletą. Ujemną cechą jest jednak ograniczenie zastosowania do pacjentów młodszych i posiadających dawcę oraz zagrożenie powikłaniami infekcyjnymi lub reakcją przeszczep przeciwko gospodarzowi-GVH.

Transplantacja szpiku rozwinęła się w okresie ostatnich 60-ciu lat (ryc.7). Zastosowanie kliniczne poprzedzone było mozolnymi badaniami eksperymentalnymi, w których udokumentowany udział mieli też Polacy Groer i Raszek z Uniwersytetu we Lwowie. Od połowy lat siedemdziesiątych dzięki technice opracowanej przez zespół D. Thomasa z Seattle, nastąpił silny rozwój transplantacji szpiku i obecnie na świecie przeprowadza się co roku około 50 tysięcy zabiegów. Znamienna jest przy tym prosta zależność pomiędzy ilością pieniędzy wydawanych na opiekę zdrowotną a liczbą przeszczepów, co widać na mapach demonstrujących liczbę transplantacji. (ryc.8, 9).

Trzeba wyjaśnić, że pod pojęciem transplantacji szpiku, a poprawniej transplantacji komórek krwiotwórczych (HSCT) kryje się wiele odmian transplantacji (ryc.10, 11), które najogólniej podzielić można na autologiczne i alogeniczne. Każda z tych odmian może być przeprowadzona przy użyciu komórek pobranych ze szpiku (BMT) lub z krwi (PBSCT) (ryc.12). Transplantacje alogeniczne wykonuje się od rodzeństwa (Si-HCT) lub osób niespokrewnionych (MUD-HCT). Wyróżnia się jeszcze wiele innych odmian w zależności od sposobu przygotowania komórek lub pacjenta do zabiegu. Wszystkie mają swoje zalety i znajdują zastosowanie w określonych sytuacjach.

Autotransplantacja szpiku (ryc.13, 14) jest w zasadzie bezpiecznym rozszerzeniem chemio-radioterapii, w którym dawki są tak duże, że mogą zniszczyć zarówno nowotwór, jak i szpik chorego. Autotransplantacja wcześniej pobranych komórek krwiotwórczych pacjenta stanowi zasadniczy element umożliwiający bezpieczne przeprowadzenie zabiegu. Śmiertelność zależna od zabiegu nie przekracza obecnie 3%. Głównym problemem są nawroty choroby, co wynikać może ze zbyt dużej resztkowej masy nowotworu w okresie pobierania komórek krwiotwórczych lub niedostatecznej siły kondycjonowania. Dlatego stosuje się autotransplantacje tandemowe i nowe metody lecznicze przed i po autotransplantacji. Wykorzystuje się przeciwciała monoklonalne, radioimmunoterapię, są też perspektywy wykorzystania leków ukierunkowanych molekularnie. Przykładem może być zastosowanie przeciwciała anty-CD20 – Rituksymab; podawany przed autotransplantacją stanowić może formę oczyszczania z choroby resztkowej, tzw. purging in vivo. Może być też używany jako leczenie zapobiegające rozwojowi choroby po przeszczepie – tzw. leczenie adjuwantowe. Autotransplantacja szpiku nie traci więc na wartości w erze leków ukierunkowanych molekularnie, odwrotnie może zyskać wyższą skuteczność i zakres stosowania.

Główne wskazanie do AHCT (ryc.15, 16) stanowią nowotwory wykazujące dawko-zależną wrażliwość na leczenie; chłoniaki złośliwe, szpiczak plazmocytowy i niektóre białaczki. Potwierdzają to dane z rejestrów. W nieziarnicznych chłoniakach wskaźnik liczby zabiegów uległ podwojeniu w okresie 2 lat i wynosi 95 / 10 mln/ rok, w szpiczaku plazmocytowym podwojenie nastąpiło w czasie 3-ch lat i wynosi około 82 / 10 mln mieszk./rok. Jest to logicznym następstwem dawko-zależnej podatności wymienionej grupy chorób na chemioterapię lub radioterapię.

Alloprzeszczep szpiku (ryc.17) jest podobnie jak autoprzeszczep poprzedzony kondycjonowaniem, które niszczy szpik biorcy i resztki komórek nowotworu. Zasadnicza różnica to podanie komórek od dawcy zgodnego w HLA, którym jest albo rodzeństwo (Si-HCT), albo dawca niespokrewniony znaleziony za pomocą zintegrowanego systemu poszukiwania w światowych rejestrach dobrowolnych dawców. W wyniku alloprzeszczepu dochodzi do powstania chimery, gdyż w organizmie biorcy rozwija się hematopoeza i immunologiczny system obronny innego człowieka-dawcy (ryc.18). Pomimo zgodności limfocyty alogenicznego szpiku mają potencjalnie większą siłę oddziaływania przeciw- nowotworowego – GVT niż własne. Dlatego można powiedzieć, że allotransplantacja jest mediowaną przez chimeryzm formą immunoterapii, w której ważną rolę odgrywają supresorowe limfocyty T dawcy (ryc.19). Liczba allotransplantacji wykazuje na świecie stałą tendencję wzrostową. Wynika to głównie z rosnącego zastosowania do leczenia ostrych białaczek (czas podwojenia wskaźnika liczby zabiegów do wartości rzędu 64/10 ml mieszk./rok - 5 lat), w pewnym stopniu również z wykorzystania w leczeniu złośliwych chłoniaków, szpiczaka plazmocyтового i białaczki limfocytowej przewlekłej (wskaźniki podwojenia odpowiednio 11, 7, 4 i 2,9 lat).

Głównymi problemami warunkującymi postęp w transplantacji szpiku są (ryc.20) :

1. Toksyczność kondycjonowania przed przeszczepem, ograniczająca zastosowanie u osób starszych i słabszych biologicznie.
2. Dostępność dawcy.
3. Leczenie choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (ryc.21) i powikłań infekcyjnych.

W celu zmniejszenia toksyczności w ostatnich latach zaczęto stosować tzw. "minitransplantacje", czyli odmiany allotransplantacji polegające na zredukowaniu kondycjonowania, tak by powodowało ono bardzo silną immunosupresję, ale bez pełnego zniszczenia szpiku biorcy (ryc.22). Następnie przeszczepia się możliwie dużą liczbę komórek krwiotwórczych, w wyniku czego u biorcy powstaje mieszany chimeryzm, tzn. współistnieje układ krwiotwórczy biorcy i dawcy. Taki przeszczep nazywa się allotransplantacją ze zredukowanym kondycjonowaniem (allo-RIC) lub też niemieloablacyjnym przeszczepem komórek krwiotwórczych (ang. *non-myeloablative stem cell transplantation* – NST). Z czasem, zmniejszając immunosupresję, doprowadza się do wyparcia hematopoezy biorcy przez rozrastający się szpik dawcy i ostatecznie do pełnego chimeryzmu typu dawcy. Przy tak wykonanym przeszczepie na początku zabiegu objawy toksyczności są stosunkowo słabe, co pozawala na stosowanie tej metody u chorych starszych lub słabszych biologicznie. Leczenie po transplantacji jest jednak skomplikowane i wymaga dużego doświadczenia. Dostyć często zachodzi potrzeba dodawania limfocytów dawcy lub doszczepu. Co gorsza wskaźnik nawrotów jest wyższy niż przy przeszczepach z pełnym mieloablacyjnym kondycjonowaniem, tak że w sumie wskaźniki całkowitego przeżycia są podobne (ryc.23).

Z oczywistych przyczyn biologicznych ponad 75% ludzi ze wskazaniami do alloprzeszczepu nie ma dawcy będącego rodzeństwem. Obecnie ponad 80% spośród nich ma szansę na znalezienie dawcy w światowej sieci rejestrów

liczącej około 13–tu milionów wolontariuszy, w czasie do 3 miesięcy. Dzięki temu liczba przeszczepów od niespokrewnionych dawców wzrosła zbliżając się do liczby przeszczepów od rodzeństwa. Docelowo będzie znacznie wyższa, jeśli rejestry rozwiną się ilościowo i jakościowo. Są to jednak zabiegi trudniejsze i kosztowniejsze niż inne, dlatego postęp jest tu zależny od zapewnienia znacznych środków finansowych.

Problem powikłań spowodowanych GVH i infekcjami jest bardzo złożony. Jego rozwiązanie wymaga dalszego ulepszania metod doboru dawcy, leczenia immunosupresyjnego oraz diagnostyki i leczenia oportunistycznych infekcji, szczególnie wirusowych i grzybiczych.

Wskazania do transplantacji zmieniają się wraz z rozwojem medycyny. Wpływ wprowadzenia leków celowanych jest widoczny w analizach statystycznych na razie tylko w odniesieniu do przewlekłej białaczki szpikowej, po wprowadzeniu imatinibu. Blokując on patologiczne kinazy tyrozyny kodowane przez onkogen bcr/abl i daje 83% dużych odpowiedzi cytogenetycznych w pierwszej fazie przewlekłej tej choroby (ryc.24).

. Zmieniło to w sposób zasadniczy politykę leczenia MLC i co za tym idzie wskazania do allotransplantacji szpiku, które uległy wyraźnemu ograniczeniu. Jest to zrozumiałe, gdy weźmie się pod uwagę, wysoką medianę wieku dla MLC, rzędu 55 lat, wobec czego większość chorych może liczyć tylko na leki selektywne. Jest to ważny argument, wobec którego maleje znaczenie wad takich jak konieczność stałego przyjmowania imatinibu, potrzebę specjalistycznego monitorowania, pojawianie się oporności na lek oraz możliwość wystąpienia akceleracji lub kryzy blastycznej pomimo dobrej odpowiedzi. Problem oporności i nietolerancji zmniejszyło wprowadzenie do leczenia nowszych generacji inhibitorów kinaz; dasatynibu i nilotynibu.

Myśląc o młodszych chorych, szczególnie tych z chorobą wysokiego ryzyka, trudno jest bezkrytycznie zaakceptować wady inhibitorów kinaz pamiętając, że allotransplantacja szpiku nadal pozostaje jedyną metodą dająca trwale

wyleczenie MLC, potwierdzone długimi obserwacjami. W dodatku, w ostatnich latach bezpieczeństwo i wyniki transplantacji ulegają dużej poprawie.

W sumie powstała złożona sytuacja, w której formułuje się tymczasowe algorytmy postępowania w MLC (ryc.25, 26). Aktualnie leczenie allotransplantacją należy rozważać u pacjentów w pierwszej fazie przewlekłej (FP) przy wysokim wskaźniku ryzyka choroby (wskaźniki Sokala i Hasforda), a niskim wskaźniku ryzyka samej transplantacji (wskaźnik Gratwohl). Decyzje należy podejmować uwzględniając cechy indywidualne chorego i jego świadome stanowisko. Leczenie alloprzeszczepem jest nadal wskazaniem dominującym w zaawansowanych postaciach choroby.

Reasumując trzeba więc jednoznacznie stwierdzić, że wprowadzenie leków ukierunkowanych molekularnie spowodowało przełomową poprawę wyników leczenia przewlekłej białaczki szpikowej jako sumę bezpośredniego efektu tych leków oraz możliwości zastosowania udoskonalonych form transplantacji szpiku.

Transplantacja szpiku w Polsce

Na początku lat 90-tych w wysoko rozwiniętych krajach trwał szybki rozwój transplantacji szpiku. Tymczasem w Polsce wykonywano tylko kilka przeszczepów rocznie, głównie w ramach pionierskich wysiłków zespołu prof. W. Jędrzejczaka. Mieliśmy wtedy dobrze prowadzone leczenie indukujące remisję i coraz więcej chorych mogło być wyleczonych przeszczepem. Dlatego w 1991 roku rozpoczęliśmy organizować program przeszczepiania szpiku w Katowicach, jak również w innych ośrodkach. W następnych latach liczba przeszczepów szpiku zwiększała się o około 15% rocznie (ryc.27). Ten postęp był wynikiem bardzo dobrej współpracy, zarówno pomiędzy hematologami zajmującymi się dorosłymi i dziećmi, jak i naszej współpracy z chirurgami. Dzięki bliskim kontaktom z Instytutem Transplantologii Warszawskiego UM i Krajową Radą Transplantacyjną możliwe było stworzenie profesjonalnego systemu współpracy, specjalizacji z transplantologii itp. Ogromne znaczenie miały dla nas przyjazne kontakty z profesorami Wojciechem Rowińskim, Januszem Wałaszewskim, Piotrem Kalicińskim, Markiem Krawczykiem, Leszkiem Pączkiem. Na co dzień stale konsultowaliśmy się z Wiesławem Jędrzejczakiem i Jerzym Kowalczykiem.

W 1996 wykonano w Polsce 187 przeszczepów komórek krwiotwórczych w 7-miu ośrodkach. Możliwości ratowania chorych alloprzeszczepem ograniczone były tym, że większość chorych nie miała dawcy rodzinnego. **Stało przed nami kolejne wyzwanie - przeszczepianie szpiku od dawców niespokrewnionych.** Jak zwykle w takich sytuacjach istnieje obawa, że niepowodzenie nowego przedsięwzięcia może zahamować postęp. Urszula, pacjentka leczona w Instytucie Hematologii z powodu zaawansowanej i odpornej na leczenie przewlekłej białaczki szpikowej i jej lekarze rozumieli, że przeszczep daje jedyną szansę ratunku. Było jednak bardzo duże ryzyko niepowodzenia zarówno ze względu na zaawansowanie choroby, jak i cechy dawcy, którą była Holenderka po wielu ciążach. Według dzisiejszych kryteriów wskazania nie

byłyby zaakceptowane. Duże znaczenie w podjęciu decyzji miała Urszula ze swoją zadziwiającą wolą walki o życie i energią. Przeszczep odbył się w nocy 17/18 lutego 1997 i pomimo ciężkiej reakcji GVH, zakończył się pełnym wyzdrowieniem. Obecnie 11 lat po zabiegu (ryc.28), Urszula jest w doskonałej kondycji, jest osobą powszechnie znaną, założycielka własnego rejestru i bardzo aktywną liderką inicjatyw zmierzających do obrony praw pacjentów. Jeszcze w tym samym 1997 roku wykonaliśmy kolejny przeszczep od niespokrewnionego dawcy, a w następnych latach liczba takich przeszczepów rosła wykorzystując dawców z zagranicznych rejestrów. Wszyscy oczekiwaliśmy na pierwszych dawców z Polski. Symboliczną rolę odegrała w tym znowu Urszula. Organizując swój rejestr rozsyłała listy i na jeden z nich zareagował biolog molekularny z Katowic. Okazał się być dobrym dawcą dla młodego chłopca ze Śląska, któremu uratował życie. Poznali się kilka lat później. (ryc.29).

Transplantologia rozwija się w Polsce pomimo bardzo niskich środków finansowych, głównie dzięki entuzjastom. W 2006 w Polsce było 17 ośrodków transplantacji szpiku i wykonano w nich 854 zabiegi. Nasz ośrodek wykonując regularnie ponad 165 transplantacji rocznie stał się jednym z największych w Europie. Pomimo niewątpliwego postępu w Polsce, wskaźniki liczby zabiegów w przeliczeniu na liczbę ludności są nadal dwukrotnie niższe niż w przodujących krajach, a w 2007 nastąpił spadek liczby przeszczepów o 9%. Wyniki są zbliżone do uzyskiwanych w Europie Zachodniej (ryc.30). Liczba transplantacji od polskich dawców niespokrewnionych rośnie powoli (ryc.31). Potrzebne są nie tylko środki finansowe, ale i podniesienie sprawności leczenia na wszystkich etapach, począwszy od lekarza rodzinnego.

Aktywność naukowa w dziedzinie transplantacji szpiku jest natomiast coraz bardziej doceniana w skali międzynarodowej. Wśród naszych badań można wymienić jedno z pierwszych na świecie badania wykazujące znaczenie receptorów KIR w powstawaniu choroby GVH, czy też zorganizowanie

drugiego na świecie programu badania polimorfizmu NOD2/CARD15 przed alloprzeszczepami.

Opracowaliśmy też wspólnie z ośrodkami niemieckimi i skandynawskimi oryginalny program nisko toksycznego kondycjonowania przed alloprzeszczepieniem od rodzeństwa lub od dawców niespokrewnionych z wykorzystaniem treosufanu w oparciu na 3 wieloośrodkowych badaniach. Główną zaletą jest niska toksyczność, pomimo działania o sile mieloablacyjnej jest to więc próba znalezienia złotego środka pomiędzy kondycjonowaniami klasycznymi i niemieloablacyjnymi, które są obciążone częstymi wznowami choroby (ryc.23). Kilka tygodni temu opublikowaliśmy w *British.J. Hem.* wyniki uzyskane tą metodą w przewlekłej białaczce szpikowej (ryc.32). Wskaźniki przeżycia są bardzo podobne do uzyskanych w słynnym badaniu IRIS przy użyciu imatynibu, co demonstruje możliwość postępu w transplantologii i jest naszą odpowiedzią na wyzwanie, jakie niesie ze sobą era leków ukierunkowanych molekularnie.