

# STIMULACIJA HEMATOPOEZE IN VLOGA MATIČNIH CELIC V TERAPIJI

Jože Pretnar

## Uvod

Koncept nastajanja krvnih celic in vlogo krvotvornih matičnih celic poznamo že skoraj 100 let. Danes sta -mehanizem in njegova regulacija dobro prepoznana in ta spoznanja že več desetletij uporabljamo v klinični medicini.

Že od sedemdesetih let 20. stoletja znamo presajati krvotvorne matične celice. Danes je to eden od najbolj učinkovitih načinov zdravljenja cele vrste krvnih pa tudi nekaterih drugih bolezni.

S pomočjo rekombinantne tehnologije danes lahko sintetiziramo vrsto dejavnikov, ki regulirajo hematopoezo. V vsakodnevno klinično prakso tako sodi zdravljenje z rekombinantnim eritropoetinom in dejavniki rasti granulocitne in granulocitno-makrofagne vrste – G-SCF in GM-CSF.

V zadnjih letih so odkrili v kostnem mozgu tudi matične celice, ki obnavljajo tudi nekrvotvorna tkiva – mezenhimske matične celice, nevrnalne matične celice, jetrne matične celice. Zaenkrat teh celic še ne znamo uporabljati pri zdravljenju. Gre pa za povsem novo in epohalno odkritje, ki bo prihodnjih desetletjih predvidoma korenito spremenilo klinično medicino.

## Eritropoetin in dejavniki rasti granulocitne vrste

*Eritropoetin* je naravni glikoprotein, ki regulira proliferacijo in dozorevanje v rdečo vrsto usmerjenih krvotvornih celic. Rekombinantni eritropoetin uporabljamo pri zdravljenju hipoproliferativnih anemij – simptomatske anemije ob kroničnih vnetjih, malignih boleznih ter anemija pri kronični ledvični odpovedi in bolnikih, ki so v programu kronične hemodialize (1). Prav tako je eritropoetin učinkovit pri zdravljenju anemije, ki je posledica citostatskega zdravljenja (2).

Eritropoetin uporabljamo tudi za povečanje mase eritrocitov v obtoku pred predvidenimi operativnimi posegi pri bolnikih, ki odklanjajo transfuzije, ali pa pred zbiranjem krvi za avtotransfuzijo.

Pri ledvičnih boleznih in dializnih bolnikih dajemo eritropoetin v obliki intravenske ali podkožne injekcije v začetnem odmerku 50 IE/kg telesne teže trikrat tedensko. Odmerek prilagodimo učinku. Pri anemiji zaradi malignih bolezni ali pri preoperativnem zdravljenju so običajno potrebni tudi večji odmerki, od 150 do 600 IE /kg telesne teže dva do trikrat tedensko. Izgleda, da je prav tako učinkovito tudi zdravljenje z večjimi odmerki enkrat tedensko. Na ta način izboljšamo sodelovanje bolnika pri zdravljenju (3).

V zadnjih letih preskušajo nov sintetiziran analog eritropoetina – NESP (novel erythropoiesis stimulating protein) – darbepoetin alfa. Le ta je enako učinkovit kot običajni eritropoetin, ima pa trikrat daljšo razpolovno dobo (4).

*Dejavniki rasti granulocitne in granulocitno-makrofagne vrste* so naravni glikoproteini, ki regulirajo nastajanje in sproščanje nevtrofilnih granulocitov. Tako kot eritropoetin, jih sintetizirajo s pomočjo rekombinantne tehnologije. Dejavnike rasti uporabljamo profilaktično ali terapevtsko pri bolnikih s hudo nevtropenijo in okužbami. Največ izkušenj je z njihovo uporabo pri zdravljenju s presaditvijo krvotvornih matičnih celic (5). Spodbujajo tudi proliferacijo krvotvornih matičnih celic in njihovo izplavljanje v

periferno kri. Ta učinek uporabljamo za mobilizacijo in zbiranje krvotvornih matičnih celic iz periferne krvi (6). Za klinično uporabo prihajajo v poštev trije pripravki – filgrastim, lenograstim in molgrastim. Pri zdravljenju in preprečevanju nevtropenije jih uporabljamo v odmerkih od 2 do 5 µg/kg telesne teže, za mobilizacijo in zbiranje perifernih krvotvornih matičnih celic pa v odmerku 5 do 10 µg/kg telesne teže. Običajno dajemo zdravilo v obliki podkožnih injekcij.

### Presaditev krvotvornih matičnih celic

Presaditev krvotvornih matičnih celic – PKMC se je izkazala za zelo učinkovit način zdravljenja predvsem krvnih bolezni pa tudi nekaterih drugih bolezni (7). Presajamo lahko krvotvorne matične celice, ki jih zberemo iz kostnega mozga, periferne krvotvorne matične celice, ki jih zberemo s citaferezo iz periferne krvi ter matične celice, ki jih zberemo iz placentarne krvi po rojstvu posteljice (8).

Glavne indikacije za zdravljenje s PKMC so prikazane v tabeli 1.

**Tabela 1. Indikacije za zdravljenje s presaditvijo krvotvornih matičnih celic (prirejeno po 9).**

Bolezen	Alo-sor.	Alo-nes.	Auto
AML	+	?	+
ALL	+	?	+
KML	+	+	?
KLL	?	-	?
NHL	?	-	+
HD	?	-	+
DP	?	-	+
AA	+	?	-
ST	-	-	?
AIB	-	-	?

Legenda: **AML**-akutna mieloblastna levkemija, **ALL**-akutna limfoblastna levkemija, **KML**-kronična mieloična levkemija, **KLL**-kronična limfocitna levkemija, **NHL**-neHodgkinovi maligni limfomi, **HD**-Hodgkinova bolezen, **DP**-diseminirani plazmocitom, **AA**-huda aplastična anemija, **ST**-solidni tumorji, **AIB**-avtoimune bolezni.

+ ustaljena indikacija, - ni indikacije, ? indikacija še ni ustaljena

*Alogenična sorodna PKMC* prihaja v poštev pri bolnikih do starosti 55 let in je zdravljenje izbora pri akutnih levkemijah, kronični mieloični levkemiji, nekaterih oblikah mielodisplastičnih sindromov in hudi aplastični anemiji.

*Alogenična nesorodna PKMC* prihaja v poštev le pri bolnikih, ki so mlajši od 45 let in se zdravijo zaradi kronične mieloične levkemije. Njena morebitna koristnost pri zdravljenju drugih bolezni, predvsem akutnih levkemij, še ni dokončno ovrednotena.

*Avtologna PKMC* prihaja v poštev v starosti do 65 let pri bolnikih z akutnimi levkemijami, diseminiranim plazmocitomom, Hodgkinovimi in ne-Hodgkinovimi limfomi. Njena koristnost pri zdravljenju kronične mieloične levkemije in predvsem solidnih malignih novotvorbah (rak dojke, neuroblastom, germinalni tumorji itd) še ni dokončno ovrednotena. V zadnjih letih potekajo tudi študije o učinkovitosti avtologne PKMC pri zdravljenju agresivnih oblik avtoimunskih bolezni, kot so sistemski lupus, revmatoidni artritis in multipla skleroza.

Presaditev krvotvornih matičnih celic omogoča intenzivno zdravljenje s citostatiki in ionizirajočimi žarki. Pri običajni PKMC uporabljamo tako imenovano mieloablativno zdravljenje, s katerim povzročimo ireverzibilno okvaro kostnega mozga. Tako zdravljenje spremljajo številni zapleti in zato ni primerno za starejše bolnike in za

bolnike z drugimi resnimi kroničnimi boleznimi. V zadnjih letih se vse bolj uveljavlja *nemioloablativna PKMC*. Pri tej bolnika pripravimo na presaditev z manj intenzivno kombinacijo imunosupresivnih zdravil in citostatikov (10). Tak način PKMC je primeren tudi za retransplantacijo. Pri *nemioloablativni PKMC* je pomemben predvsem učinek presajenih imunokompetentnih celic – darovalčevih limfocitov T (11). Zato je *nemioloablativna PKMC* učinkovita tudi pri zdravljenju malignih bolezni, ki so sicer rezistentne na kemo- in radioterapijo, na primer hipernefrom (12).

V Sloveniji izvajamo program PKMC od leta 1989. Leta 2001 je Enota za PKMC na KO za hematologijo dobila akreditacijo European Group for Blood and Marrow Transplantation za izvajanje vseh načinov presajanja. Presaditvena dejavnost v Enoti za PKMC je prikazana na diagramu 1.

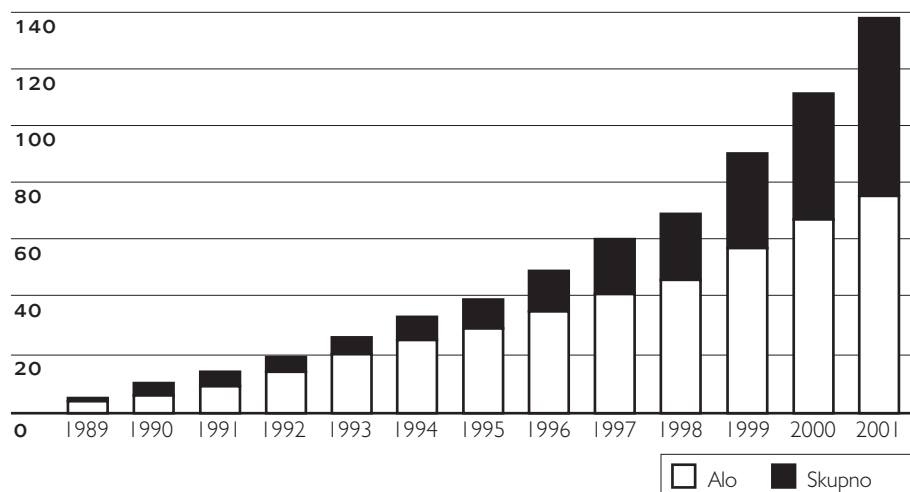


Diagram 1. Kumulativna aktivnost programa PKMC – Klinični center Ljubljana.

### Perspektiva zdravljenja z uporabo ne-krvotvornih matičnih celic

V zadnjih letih so odkrili, da se v kostnem mozgu poleg krvotvornih matičnih celic nahajajo tudi druge pluripotentne matične celice (13). Najbolj preučena je mezenhimska matična celica, ki se lahko diferencira v celo vrst specializiranih celic v organih in tkivih – npr. adipocite, fibrocite, osteocite, hondrocite, miocite, astrocite (14). Mezenhimske pluripotentne matične celice v kostnem mozgu se ločijo od krvotvornih matičnih celic – na membrani nimajo receptorjev CD 34. S poskusi na živalih so dokazali, da lahko s presaditvijo teh matičnih celic dosežemo regeneracijo miokarda po miokardnem infarktu (15). Prav tako so na živalskih poskusih dokazali, da so v kostnem mozgu matične celice, ki se diferencirajo v jetrne celice. S presaditvijo teh matičnih celic so vzpostavili normalno jetrno funkcijo in uspešno pozdravili pri miših tirozinemijo tip I (16). S presajanjem nevrčnih matičnih celic bo morda moč zdraviti nekatera degenerativna obolenja osrednjega živčevja (17). Ugotovili so tudi, da je možna transdiferenciacija nekaterih tkivnih celic, npr. miocitov, nevrčnih celic in vaskularnih celic, v krvotvorne matične celice (18). S presaditvijo teh celic so pri poskusnih živalih vzpostavili trajno donorsko hematopoezo (19). Take matične celice bi lahko uporabljali za avtologno presaditev pri nekaterih krvnih boleznih, pri katerih ni moč zbrati krvotvornih matičnih celic iz kostnega mozga.

Teoretično se lahko matične celice, ki jih dobimo iz kostnega mozga, diferencirajo v kakršne koli tkivne celice. Zato lahko upravičeno sklepamo in pričakujemo, da bodo matične celice postale že v kratkem "univerzalno zdravilo" za celo vrsto malignih in degenerativnih bolezni različnih organov in tkiv.

## Literatura

1. Bieber E. Erythropoietin, the biology of erythropoiesis and epoetin alfa – an overview. *J Reprod Med* 2001; 46, suppl 5: 521-30.
2. Littlewood TJ, Bajerra E, Nortier JWR et al. Effects of epoetin alfa on hematologic parameters and quality of life. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2865-74.
3. Gabrilove JL, Cleeland CS, Livingstone RB et al. Clinical evaluation of once-weekly dosing of epoetin alfa in chemotherapy patients. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2875-82.
4. Macdougall IC. An overview of the efficacy and safety of novel erythropoiesis stimulating protein (NESP). *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16, suppl 3: 14-21.
5. Dempke W, Von Poblozki A, Grothey A, Schmoll HJ. Human hematopoietic growth factors: old lessons and new perspectives. *Anticancer Res* 2000; 20: 5155-64.
6. Bensinger WI, Martin PJ, Storer B et al. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral blood cells from HLA identical relatives in patients with hematologic cancer. *N Engl J Med* 2001; 344: 175 – 81.
7. Zittoun RA, Mandelli F, Willemze R et al. Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1995; 332: 217 – 23.
8. Fischmeister G, Kurz M, Haas OA et al. G-CSF versus GM-CSF for stimulation of peripheral blood progenitor cells and leukocytes in healthy volunteers: comparison of efficacy and tolerability. *Ann Hematol* 1999; 78: 117 – 23.
9. Goldmann JM, Scmitz N, Niethammer D, Gratwohl A. Indications for stem cell transplantation. Blood and marrow transplantation. EBMT handbook. EBMT in ESH, 2000 revised ed.
10. Slavin S, Nagler A, Naparstek E et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Blood* 1998; 91: 756 – 63.
11. Giralt S, Estey E, Albitar M et al. Engraftment of allogeneic hematopoietic progenitor cells with purine analog containing chemotherapy: harnessing graft versus leukemia without myeloablative therapy. *Blood* 1997; 89: 4531-6.
12. Childs R, Chernoff A, Contentin N et al. Regression of metastatic renal-cell carcinoma after nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *N Engl J Med* 2000; 343: 750 – 8.
13. Mertelsmann R. Plasticity of bone marrow derived stem cells. *J Hematother Stem Cell Res* 2000; 9: 957 – 60.
14. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143 – 7.
15. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701 – 5.
16. Mitaka T. Hepatic stem cells : from bone marrow to hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 281: 1 – 5.
17. Mezey E, Chandros KJ. Bone marrow: a possible alternative source of cells in adult nervous system. *Eur J Pharmacol* 2000; 405: 297 – 302.
18. Orkin SH. Stem cell alchemy. *Nature Med* 2000; 6: 1212 – 3.
19. Liechty KW, Mackenzie TC, Shaaban AF et al. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep. *Nature Med* 2000; 6: 1282 – 6.