proLékaře.cz | 10.9.2025

Úspěšný odběr periferních krvetvorných buněk u pacientky s chronickou myeloidní leukemií léčenou nilotinibem. Kazuistika

Vokurka S.[1], Lysák D.[1], Karas M.[1], Koza V.[1], Dvořák P.[2], Hrabětová M.[1], Jindra P.[1], Vozobulová V.[1]
[1]Hematologicko-Onkologické oddělení a [2]Oddělení lékařské genetiky, Fakultní nemocnice Plzeň

Souhrn
Je dokumentován případ úspěšné mobilizace a odběru periferních krvetvorných buněk (PBSC) u 52leté pacientky léčené nejprve imatinibem a následně nilotinibem pro chronickou myeloidní leukemii diagnostikovanou v roce 2002 se středním prognostickým rizikem dle Sokala a Hasforda. Po selhání léčby s interferonem alfa a imatinibem bylo dosaženo kompletní cytogenetické remise po šesti měsících a první kompletní molekulární remise po šestnácti měsících léčby s nilotinibem. Za využití stimulace filgrastimem v dávce 10 μg/kg/den byla v den +4 provedena jedna leukocytaferéza se ziskem produktu autologního štěpu s obsahem 2,98 x 10^6/kg CD34+ buněk. Štěp byl kryoprezervován a vyšetřen: RT-PCR prokázala BCR-ABL pozitivitu (BCR-ABL/ABL poměr 0,0017 dle RQ-PCR), analýza FISH byla negativní. Podle našich vědomostí je toto první případ dokumentovaného odběru PBSC u pacienta léčeného imatinibem a následně nilotinibem.
Klíčová slova: nilotinib, leukaferéza, chronická myeloidní leukemie

Summary
Vokurka S., Lysák D. Karas M., Koza V., Dvořák P., Hrabětová M., Jindra P., Vozobulová V.: Úspěšný odběr periferních krvetvorných buněk u pacientky s chronickou myeloidní leukemií léčenou nilotinibem. Kazuistika

Here we report a case of successful mobilization and harvest of peripheral hematopoietic stem cells in imatinib pretreated and nilotinib treated 52-years old woman, who was diagnosed with chronic myeloid leukemia, Sokal and Hasford intermediate risk group, in 2002. She failed interferon-alfa and imatinib treatment and achieved first complete molecular remission after 16 months of nilotinib treatment. The patient was mobilized with filgrastim at the dose of 10 μg/kg/day. On the day +4, single leukapheresis was performed and autologous graft containing 2,9 x 10^6/kg CD34+ cell was harvested. The apheresis product was cryopreserved and analyzed: the RT-PCR analysis revealed BCR-ABL positivity (BCR-ABL/ABL ratio 0,0017 in RQ-PCR), the FISH analysis was negative. To our knowledge, this is the first report of successful PBSC harvest in a patient significantly pretreated with imatinib and nilotinib.
Key words: nilotinib, apheresis, chronic myeloid leukemia

Transfuze Hematol. dnes, 16, 2010, No. 2, p. 101–103.

Úvod

Většina pacientů v chronické fázi chronické myeloidní leukemie léčené imatinibem dosáhne dlouhodobé léčebné odpovědi (šest let celkové přežití 88 %) s dobrou kvalitou života (1). Alogenní transplantace krvetvorných buněk již není považována za první linii léčby a od roku 1999 lze pozorovat setrvalý a významný pokles počtu těchto transplantací registrovaných v rámci Evropské společnosti pro transplantace kostní dřeně (EBMT, Group for Blood and Marrow Transplantation) (2). Autologní transplantace krvetvorných buněk může pomoci zbrzdit progresi nemoci, poskytnout prodloužení přežití u některých pacientů, může pomoci navodit opětovnou citlivost na léčbu imatinibem (3) nebo může nejspíše přispět i k udržení dlouhodobé velké molekulární remise po předchozí léčbě dasatinibem (12). Nejedná se však o standardně doporučovaný nebo obecně zavedený postup (3, 4). Počet realizovaných autologních transplantací je proto naprosto minimální a pouze šest případů bylo reportováno do EBMT v roce 2007 (5). Současně však klinické studie a zkušenosti prokazují proveditelnost odběrů periferních krvetvorných buněk (PBSC) u pacientů s dosaženou kompletní cytogenetickou remisí (CCyR) při léčbě imatinibem (6, 7). V případě pacientů léčených nilotinibem však nejsou poznatky o možnosti odběru PBSC prakticky žádné.

Nilotinib (Tasigna® - Novartis) je představitelem druhé řady inhibitorů tyrosin-kináz s aktivitou proti ABL, ARG, KIT a PDGFR (platelet-derived growth factor receptor). Je 10x až 50x účinnější než imatinib ve smyslu inhibice proliferace a autofosforylace BCR-ABL buněčných linií a většiny BCR-ABL mutací s výjimkou T315I (8). Hlavní efekt nilotinibu je především antiproliferační. U primitivních CD34+ buněk CML apoptózu nenavozuje, u více zralejších forem však ano (9). U pacientů v chronické fázi, kteří jsou rezistentní nebo netolerují imatinib, dosahuje nilotinib 44 % CCyR, které jsou dlouhodobé a s odhadovaným celkovým přežitím dvou let u 88 % pacientů (10).

Zde dokumentujeme případ úspěšné mobilizace a odběru PBSC u 52leté pacientky s CML aktuálně léčenou nilotinibem.

proLékaře.cz | 10.9.2025

Metodika

Popis individuálního případu. Transkripty BCR-ABL byly analyzovány ve vzorcích kostní dřeně metodikou end-point nested real-time PCR (RT-PCR) s minimální citlivostí 1 : 100 0000 podle standardizovaného postupu podle Dongen et al. (11) a dále metodikou real-time quantitative PCR (RQ-PCR) s minimální citlivostí 1 : 100 000 s využitím FusionQuant^R Kit (Ipsogen, France). Fluorescence in situ hybridization (FISH) analýza byla realizována s využitím Vysis LSI BCR/ABL ES Dual Color Translocation Probe Set (Abbott Molecular Inc., USA) s citlivostí 1 : 200. Kompletní molekulární remise (CMoR) byla definována jako stav nedetekovatelných BCR-ABL transkriptů pomocí RT a RQ-PCR s výše uvedenými citlivostmi. Velká molekulární odpověď byla definována jako stav ≥ 3 log redukce hladin BCR-ABL transkriptů.

Popis případu

U 52leté pacientky byla v roce 2002 diagnostikována Philadelphia-chromosome pozitivní a BCR-ABL (b2a2) fúzní gen pozitivní CML v chronické fázi se středním prognostickým rizikem podle Sokala (index 1,13) i Hasforda (index 881,7). Vstupní vyšetření mutace BCR-ABL nebylo provedeno. Pacientka neměla vhodného dárce krvetvorných buněk v rodině a vyhledávání dárce v registrech nebylo realizováno pro odmítavý postoj z její strany. Z důvodu rezistence na úvodní léčbu s interferonem-alfa byla u pacientky po půl roce v 7/2002 zahájena léčba imatinibem 400 mg denně. Po dvaceti měsících bylo dosaženo 1. CCyR, bez dosažení velké molekulární odpovědi dle RT-PCR a RQ-PCR analýz. O dva roky později v 3/2006 došlo k cytogenetickému relapsu a dávka imatinibu byla navýšena na 600 mg/den. Vyšetření na přítomnost mutace BCR-ABL nebylo provedeno. Pro další progresi nemoci s nárůstem 30 % BCR-ABL pozitivity podle FISH analýzy bylo v 12/2006 zahájeno podávání nilotinibu 400 mg dvakrát denně v rámci protokolu studie ENACT (Novartis Pharmaceuticals). Za šest měsíců byla dosažena 2. CCyR a velká molekulární odpověď. Za šestnáct měsíců léčby v 4/2008 bylo dosaženo vůbec první kompletní molekulární remise (CMoR). V 3/2009 při nadále trvající CMoR vyjádřila pacientka souhlas s návrhem pokusu o odběr periferních krvetvorných buněk. Důvodem pro pokus o odběr periferních krvetvorných buněk byla jednak snaha ověřit mobilizovatelnost při léčbě s nilotinibem a jednak mít do budoucna možnost provedení autologní transplantace jako zálohu v případě selhání a vyčerpání potenciálu inhibitorů tyrozinkináz. Pacientka opět vyjádřila negativní postoj k alogenní transplantaci krvetvorných buněk a nebylo tedy ani iniciováno vyhledávání potenciálního dárce v registrech.

Mobilizace krvetvorných buněk byla zajištěna aplikací filgrastimu (G-CSF, Neupogen®, Amgen) v jedné denní dávce 10 µg/kg/den podkožně po dobu čtyř dní. Hodnoty leukocytů, hemoglobinu a trombocytů vstupně a v době aferézy byly: 7,0 a 44,3 x 10^9/l, 140 a 134 g/l, 296 a 320 x 10^9/l. Hodnoty počtu CD34+ buněk v periferní krvi po čtyřech dnech podávání filgrastimu a v den vlastního odběru byly 62,0 buněk/µl (Coulter XL průtokový cytometr). Leukocytaferéza byla realizována jednorázově čtvrtý dne mobilizace na buněčném separátoru COBE Spectra (Caridian BCT, USA) cestou dialyzační kanyly zavedené do femorální žíly. V průběhu mobilizace a v den odběru nebyla léčba s nilotinibem přerušena. Získaný autologní štěp krvetvorných buněk obsahoval 2,98 x 10^6/kg CD34+ buněk a byl standardně kryoprezervován. Vyšetření RT-PCR prokázalo BCR-ABL pozitivitu štěpu (poměr BCR-ABL/ABL 0,001 dle RQ-PCR). Analýza FISH metodikou byla negativní. Mobilizace a odběr doprovázely jen mírné komplikace: zvýšená tělesná teplota do 37,5 °C, mírné muskuloskeletální bolesti, bolest hlavy a lehká citrátová toxicita s paresteziemi. V 12/2009 zůstává pacientka dále na léčbě nilotinibem (37 měsíců), v původní CMoR a s dobrou kvalitou života téměř 8 let od stanovení diagnózy.

Diskuse

Podle nám dostupných informací je toto první sdělení v České republice a nejspíše též celosvětově, které pojednává o úspěšném odběru PBSC u pacienta předléčeného imatinibem a aktuálně léčeného nilotinibem. Samotný odběr je proveditelný s mírnými a očekávanými obtížemi na straně pacienta. S ohledem na způsob účinku nilotinibu, který byl popsaný výše, a zvýšenou koncentraci CD34+ buněk v autologním štěpu, není přítomnost BCR-ABL pozitivních buněk neočekávaným překvapením ani v případě pacientů v kompletní molekulární remisi nemoci. Ve skupině pacientů léčených imatinibem zastihl Bhatia et al. (7) pouze 8 % PCR negativních štěpů ze 134 vyšetřených.

Délku trvání léčebné odpovědi nelze u naší pacientky do budoucna přesněji odhadnout a případná léčebná strategie se bude odvíjet od aktuálních okolností - pozvolná ztráta odpovědi versus rychlá progrese s transformací do blastické fáze - kdy jistě bude nutné doplnit vyšetření mutace BCR-ABL, zvažovat další léčebný postup včetně využití dasatinibu, realizace autologní transplantace krvetvorných buněk a opakovaného poučení pacientky o významu transplantace alogenní.

Domníváme se, že s ohledem na proveditelnost odběrů PBSC u pacientů léčených inhibitory tyrozinkináz a pro možný přínos autologní transplantace krvetvorných buněk v léčbě CML (popisovaný v úvodu práce) by měly být odběry PBSC individuálně zvažovány u pacientů, kteří by v případě selhání a vyčerpání možností léčby s inhibitory tyrozinkináz měli indikaci k provedení alogenní transplantace krvetvorných buněk, kteří ale takový postup z osobních důvodů odmítají nebo nemají z hlediska HLA problematiky reálnou šanci na nalezení vhodného dárce.

Poděkování: *Práce byla částečně podpořena v rámci grantu Ministerstva zdravotnictví ČR (IGA NR/ 9268-3).*

proLékaře.cz | 10.9.2025

Literatura

1. Hochhaus A, O'Brien SG, Guilhot F, et al. Six-year follow-up of patients receiving imatinib for the first-line treatment of chronic myeloid leukemia. Leukemia 2009; 23: 1054-1061.
2. Gratwohl A, Baldomero H, Frauendorfer K, Urbano-Ispizua A. EBMT activity survey 2004 and changes in disease indication over the past 15 years. Bone Marrow Transplant 2006; 37: 1069-1085.
3. Niederwieser D. HSCT for chronic myeloid leukaemia in adults. In: Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Gratwohl A, Masszi T. The EBMT Handbook 5th Edition – Haematopoietic stem cell transplantation. Forum Service Editor 2008, p. 289-396.
4. Ljungman P, Urbano-Ispizua A, Cavazzana-Calvo M, Demirer T, Dini G, Einsele H. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumors and immune disorders: definitions and current practice in Europe. Bone Marrow Transplant 2006; 37: 439-449.
5. Gratwohl A, Baldomero H, Schwendener A, et al. The EBMT activity survey 2007 with focus on allogeneic HSCT for AML and novel cellular therapies. Bone Marrow Transplant. 2009; 43: 275-291.
6. Kreuzer KA, Kluhs C, Baskaynak G, Movassaghi K, Dorken B, le Coutre P. Filgrastim-induced stem cell mobilization in chronic myeloid leukaemia patients during imatinib therapy: safety, feasibility and evidence for an efficient in vivo purging. Br J Haematol 2004; 124: 195-199.
7. Bhatia R, Xu H, Snyder D, et al. Feasibility and efficacy of mobilization of BCR/ABL- PBSC in CML patients receiving imatinib. Blood 2004; 104: 2858.
8. Weisberg E, Manley PW, Breitenstein W. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. Cancer Cell 2005; 7: 129-141.
9. Jørgensen H, Allan E, Jordanides N, Mountford J, Holyoake T. Nilotinib exerts equipotent antiproliferative effects to imatinib and does not induce apoptosis in $CD34^+$ CML cells. Blood 2007; 109: 4016-4019.
10. Kantarjian H, Giles F, Bhalla K, et al. Nilotinib in chronic myeloid leukemia patients in chronic phase (CML-CP) with imatinib (IM) resistance or intolerance: Longer follow-up results of a phase II study. J Clin Oncol 2009; 27(15S): 7029.
11. Dongen JJ, Macintyre EA, Gabert JA, et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Report of the BIOMED-1 Concerted Action: investigation of minimal residual disease in acute leukemia. Leukemia 1999; 13: 1901-1928.
12. Rea D, Raffoux E, Cayuela JM, Maarek O, Dombret H. Sustained major molecular response in the absence of any antileukaemic therapy after dasatinib treatment and autologous peripheral blood stem cell transplantation in a patient with imatinib-resistant myeloblastic-phase chronic myeloid leukaemia. Leukemia 2009; 23: 1158-1159.

MUDr. Samuel Vokurka, Ph.D.
Smrková 160
330 01 Kyšice
e-mail: vokurka@fnplen.cz

Doručeno do redakce: 19. 10. 2009
Přijato do tisku: 21. 12. 2009

Vzdělávací akce IPVZ

Subkatedra hematologie a transfuzního lékařství
ÚHKT, U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2
Vedoucí: doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc., tel. 224 962 839, fax 224 962 857, e-mail: jaroslav.cermak@uhkt.cz

Subkatedra hematologie a transfuzního lékařství

211002103 Specializační kurz v klinické biochemii – Modul 3

Určeno pro klinické bioanalytiky ve specializační přípravě v oboru klinické biochemie, případně pro lékaře před atestací z klinické biochemie.

Program: Úvod do cytologie likvoru. Likvorové proteiny. Isofokusace a diagnostika RS. Vyšetření likvoru u pacienta v akutním stavu. Analyzátory krvinek a jejich současné možnosti při vyšetřování periferní krve. Interní kontrola kvality u morfologických vyšetření. Aplikace SLP a národního číselníku v hematologii. Kalibrace a kontrolní materiály u koagulačních vyšetření. Referenční hodnoty. Suchá chemie. Analytické systémy. Pokročilé elektromigrační techniky. Měřící postupy absolutních metod. Plamenová fotometrie, AAS, elektrochemické metody. Izolace nukleových kyselin. Polymerázová reakce a její využití při detekci známých populačně frekventovaných mutací a polymorfizmů. Separace nukleových kyseliny a blotovací techniky. Metody přímé a nepřímé molekulárně genetické diagnostiky. Detekce a kvantifikace nukleových kyselin. Interpretace výsledků v molekulární biologii. Měření v klinických laboratořích (zkouška, jednotka, princip, metoda, postup, standard měření, jednotka měření).

Vedoucí: *Ing. K. Kotaška, Ph.D.*
Místo konání: *Praha 4, Budějovická 15, Hotel ILF*
Předpokládaná cena: 5 000 Kč
18. 10. 2010 – 22. 10. 2010