



De toegevoegde waarde van pre-emptieve donorgranulocytentransfusies bij invasieve aspergillose bij patiënten in voorbereiding op een allogene stamceltransplantatie

Auteurs S.M. van Walraven, J.J. Zwaginga, W.J.W. Kollen, A. Brand, R. Bongaerts en L.M. Ball

Trefwoorden aplasie, granulocytentransfusie, hematopoëtische stamceltransplantatie, invasieve aspergillose

Samenvatting

Hematopoëtische stamceltransplantatie (HSCT) kan voor patiënten met een hematologische aandoening (maligne of benigne) soms de enige mogelijkheid voor curatie betekenen. Door de diepe en vaak langdurige granulopenie ten gevolge van de aandoening of de behandeling, lopen de patiënten een potentieel hoog risico op het ontwikkelen van een invasieve aspergillose (IA). Een IA presenteert zich vaak aspecifiek. Vroegtijdige herkenning van het ziektebeeld is van cruciaal belang, omdat mortaliteit ten gevolge van IA hoog is bij patiënten die een HSCT ondergaan. Behandeling met antimycotica alleen is vaak onvoldoende ef-

fectief, waarbij het gevaar voor resistentie bestaat en dus wordt gezocht naar nieuwe of aanvullende methoden van behandeling. Een bewezen IA was tot voor kort een contra-indicatie om een transplantatietraject in te gaan. Donorgranulocytentransfusies bieden een mogelijkheid om patiënten met een IA toch veilig te kunnen transplanteren. In dit artikel worden 2 casussen vanuit het Willem Alexander Kinder- en Jeugdcentrum van het Leids Universitair Medisch Centrum gepresenteerd, waarin granulocytentransfusies met succes pre-emptief en therapeutisch zijn toegepast.

(*Tijdschr Bloedtransfusie* 2010;3:20-5)

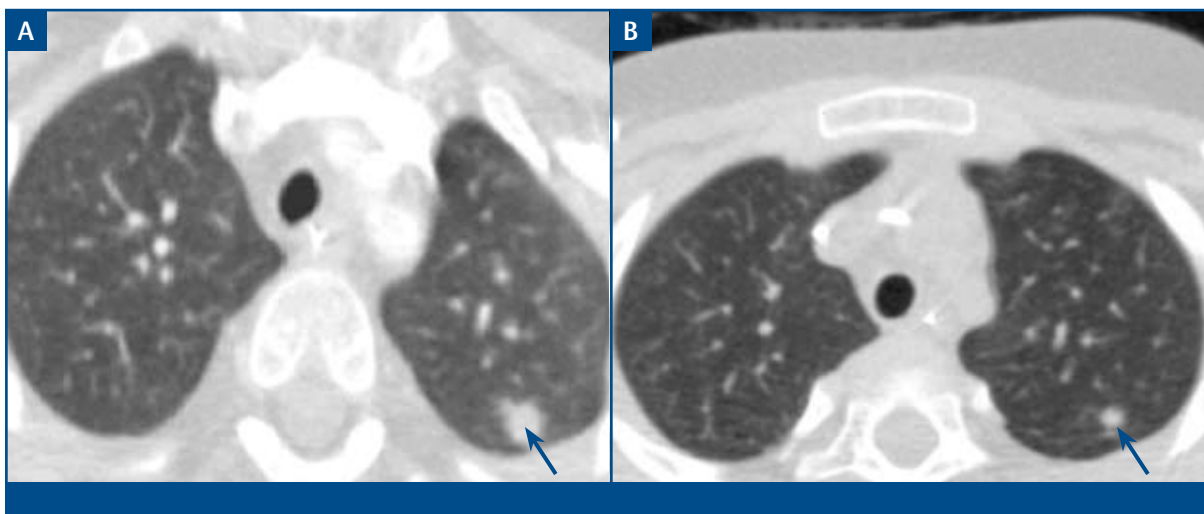
Inleiding

Patiënten die langdurig granulopenen zijn ten gevolge van falend beenmerg of een behandeling met cytostatica, zijn gevoelig voor het ontwikkelen van opportunistische infecties. Door het gebrek aan neutrofiële granulocyten zijn zij niet in staat een dergelijke infectie te klaren. Transfusies met granulocyten van donors kunnen voor deze patiënten levensreddend zijn. In dit artikel worden 2 casussen besproken van patiënten die dankzij granulocytentransfusies (GT) de voor hun noodzakelijke stamceltransplantatie konden ondergaan.

Casus I: pre-emptieve GT

In november 2006 wordt bij een 6-jarige jongen, acute lymfatische leukemie (ALL) vastgesteld. Hij wordt behandeld volgens het SKION ALL-10-protocol. In verband met een onvolledige remissie op dag 33, valt hij in de hoogrisicogroep, met een allogene

hematopoëtische stamceltransplantatie (HSCT) als onderdeel van de behandeling. Na het tweede hoogrisicoblok ontwikkelt hij symptomen van een opportunistische infectie. Een computertomografie (CT) van de thorax en een positieve kweek uit de bronchoalveolaire lavage tonen een invasieve aspergillose (IA) (sp. *Aspergillus fumigatus*) in de long aan. De behandeling met chemotherapie wordt gereduceerd om langdurige granulopenie te voorkomen. Na 6 weken intraveneuze behandeling met voriconazol (Vfend[®]) en liposomaal amfotericine (Ambisome[®]) worden op de CT van de long persisterende laesies gezien. De behandeling wordt hierop geswitcht naar voriconazol en caspofungine (Cansidas[®]). Een controle-CT kort voor de geplande HSCT laat geen duidelijke verbetering van de aspergillose zien (zie *Figuur 1*). Er wordt besloten de HSCT, voorafgaand door een myeloablatieve conditionering (etoposide, totale lichaamsbestraling) toch door te laten gaan,

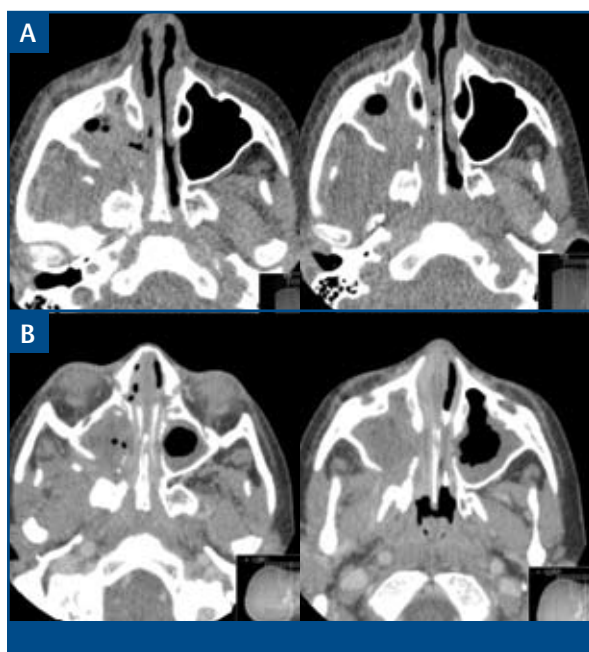


Figuur 1. Casus I: computertomografie (CT) voor en na hematopoëtische stamceltransplantatie (HSCT). A. CT-thorax bij opname voor HSCT. Meerdere perifeer gelegen noduli, met name in de bovenvelden, links meer dan rechts, waarvan een tweetal apicaalgelegen noduli toegenomen is qua grootte, vergeleken met het CT-onderzoek van een maand geleden. B. CT-thorax 12 weken na HSCT en granulocytentransfusie. Duidelijke afname van de verspreide, bekende nodulaire afwijkingen welke primair passend zijn bij angio-invasieve aspergillose (bijvoorbeeld blauwe pijl).

vanwege het grote risico op een recidief leukemie. Om uitbreiding van de IA te voorkomen wordt preventief GT afgesproken. Vanaf dag +3 tot dag +13 na de HSCT ontvangt hij in totaal 5 GT's van 2 niet-HLA-identieke broers, van wie 1 ABO-incompatibel is. De mediane GT-dosis is $2,3 \times 10^9$ granulocyten per kg van het lichaamsgewicht van de patiënt (range $1,7-3,0 \times 10^9/\text{kg}$). Erythrocyten van ABO-incompatibele GT's zijn gedepleteerd door middel van sedimentatie. De patiënt krijgt dagelijks granulocytenkolonie stimulerende factor ('granulocyte-colony stimulating factor'; G-CSF) om de functie van de geïnfundeerde granulocyten en de repopulatie van nieuwe granulocyten te optimaliseren. Het absolute aantal neutrofielen van de patiënt blijft $\geq 1,0 \times 10^9/\text{l}$ (range $1,0-8,0 \times 10^9/\text{l}$) gedurende het hele transplantatietraject. De patiënt heeft in de periode na transplantatie geen nieuwe infecties, koorts of mucositis ontwikkeld. Daarnaast is geen verhoging van het CRP gezien. Op dag +16 wordt hematologisch herstel gezien en 100% donorchimerisme. Op de controle-CT die 3 weken na de HSCT is gemaakt, wordt duidelijke afname van de nodulaire afwijkingen gezien ($\geq 50\%$ reductie). Behandeling met voriconazol per os wordt na het ontslag voortgezet tot er sprake is van voldoende immuun herstel. Ook tijdens deze periode zijn er geen verdere infectieuze complicaties opgetreden. De patiënt is nu 2 jaar na HSCT in goede klinische conditie, in complete hematologische remissie en zeer waarschijnlijk genezen van de onderliggende leukemie.

Casus II: therapeutische GT

Een 10-jarige jongen wordt in april 2008 gediagnosticeerd met ernstige aplastische anemie (SAA). Weefseltypering van zijn ouders, broers en zussen toont aan dat zijn oudste zus dezelfde humane leukocytenantigenen (HLA)-kenmerken heeft, en hiermee geschikt is als hematopoëtische stamcel donor. De patiënt wordt aangemeld voor HSCT volgens internationaal geldende richtlijnen. Op 17 juli 2008 wordt hij opgenomen op de kinderisolatie-afdeling. Kort na opname ontwikkelt hij koorts en verkoudheid met aanwijzingen voor sinusitis maxillaris. Bij de reeds maandenlang bestaande neutropenie wordt laagdrempelig gestart met systemische breed spectrum-antibiotica (vancomycine/ceftazidim). De koorts houdt echter aan en na enkele dagen ontwikkelt hij klachten van ernstige hoofdpijn. Oriënterend neurologisch onderzoek toont geen afwijkingen, er is in het bijzonder geen sprake van meningeale prikkeling. In overleg met de neuroloog wordt op 25 juli 2008 een CT van aangezicht en hersenen gemaakt (zie *Figuur 2* op pagina 22). Deze is suggestief voor een ernstige nasosinuale invasieve schimmelinfectie met uitbreiding vanuit de fossa infratemporalis tot in de fissura orbitalis. In overleg met de keel-, neus- en oor (KNO)-arts wordt besloten tot operatieve exploratie op dezelfde dag. Onder algehele narcose worden de kaak- en de zeefbeenholte uitgeruimd (infundibulotomie en voorste-ethmoidectomie). Het weggenomen weefsel, dat macroscopisch verdacht is voor schimmelinfectie wordt gekweekt. Radicale chirurgische behandeling,



Figuur 2. Casus II: computertomografie (CT)-scans voor en na hematopoëtische stamceltransplantatie (HSCT).

A. CT aangezicht diagnostiek. Beeld van nasosinusale invasieve schimmelinfectie met uitbreiding vanuit de fossa infratemporalis tot in de fissura orbitalis inferior en het vidiankanaal. Geen duidelijke intracraniale lokalisatie. **B.** CT aangezicht 2 weken na HSCT. Bekende erosieve destructie van posterieure wand van sinus maxillaris en geringe uitbreiding van weke delendensiteit in de fossa pterygopalatinum. Geen uitbreiding tijdens HSCT.

bij deze aandoening de gouden standaard, wordt gezien de locatie van de infectie en de aplasie van de patiënt niet mogelijk geacht. Inmiddels is gestart met antifungale combinatietherapie (Ambisome[®] en caspofungine), mede omdat een menginfectie met een zygomycete (lagere schimmels) niet kan worden uitgesloten. Daarnaast krijgt de patiënt dagelijks G-CSF. Gezien de ernst van het onderliggend lijden, de diepe aplasie en de niet-radicaal verwijderde actieve infectie kan de geplande HSCT niet worden uitgesteld. Er wordt besloten tot de additionele toediening van allogene GT gedurende de gehele periode rondom de transplantatie. Vanaf dag -8 tot dag +13 na HSCT ontvangt de patiënt in totaal 10 GT's van 4 niet-HLA-identieke volwassen broers en zussen van wie 2 ABO-incompatibel zijn. De mediane GT-dosis is $1,3 \times 10^9$ granulocyten per kg van de patiënt (range $1,0-2,0 \times 10^9$ /kg). Erythrocyten van ABO-incompatibele GT's worden gedepleteerd zoals hierboven beschreven. Alle GT's verlopen ongecompliceerd. Met deze behandeling blijft het absolute neutrofielenaantal van de patiënt $\geq 0,2 \times 10^9$ /l (range

$0,2-1,5 \times 10^9$ /l), daalt het C-reactieve proteïne (CRP) van 150 tot <50 mg/l en verdwijnt de koorts. Op dag +15 is er sprake van engraftment en 100% donorchimerisme. Tien dagen na de transplantatie wordt de behandeling met caspofungine gestopt, nadat is vastgesteld dat er sprake is van een azole gevoelige sp. *Aspergillus fumigatus*. De CT van het aangezicht die 3 weken na de HSCT wordt verricht toont 'evidente afname van de weke delen infiltratie'. Behandeling met voriconazol per os wordt na ontslag voortgezet tot volledig immuunherstel. Een jaar na HSCT is de patiënt in goede klinische conditie, zonder actieve infectie maar wel met de verwachte persisterende botafwijkingen.

Discussie

ALL is de meest voorkomende vorm van kanker op de kindereleeftijd.¹ Per jaar wordt in Nederland bij ongeveer 120 kinderen ALL vastgesteld. Afhankelijk van presentatie en de respons op de eerste behandeling (prednisolon en inductiefase met chemotherapie) worden de patiënten volgens een standaard-, medium- of hoogrisicoprotocol behandeld. Binnen het hoogrisicoprotocol worden hoge doses van chemotherapie gecombineerd, waardoor langdurige en diepe aplasie ontstaat. Indien een acceptabele donor (verwant of onverwant) beschikbaar is wordt een HSCT verricht. In het hoogrisicoprotocol worden hoge doses van intensieve chemotherapie gecombineerd, waardoor langdurige en diepe aplasie ontstaat.

Aplastische anemie is een ernstig en soms levensbedreigend ziektebeeld dat zich kenmerkt door het uitvallen van de hematopoëtische cellijnen in het beenmerg, waardoor de patiënt transfusieafhankelijk wordt en gevoelig voor infecties.² De oorzaak kan liggen in een verworven of erfelijke aandoening. In 80% van de verworven gevallen kan de oorzaak niet worden achterhaald.³ Op basis van de mate van uitval van de verschillende cellijnen wordt onderscheid gemaakt tussen ernstige aplastische anemie en milde of niet ernstige aplastische anemie. Bij zeer ernstige aplastische anemie ('severe aplastic anemia'; SAA) voldoet de patiënt aan ten minste 2 van de volgende criteria.³

- granulocyten $<0,5 \times 10^9$ /l
- trombocyten $<20 \times 10^9$ /l
- anemie met gecorrigeerde reticulocytenindex van $<1\%$

Vooral bij SAA is in de initiële diagnostische fase de therapie beperkt tot ondersteunende maatregelen: transfusies en selectieve darmdecontaminatie. Indien de patiënt beschikt over een HLA-identieke familie-

Aanwijzingen voor de praktijk

1. Patiënten bij wie langdurig sprake is van diepe granulopenie zijn gevoelig voor het ontwikkelen van opportunistische infecties.
2. Profylactische behandeling met fungostatica is geïndiceerd voor patiënten bij wie een langdurige diepe granulopenie te verwachten is.
3. Granulocytenfusies kunnen veilig toegepast worden om bij patiënten met een actieve schimmelinfectie een granulopenie periode te overbruggen.

donor is allogene beenmergtransplantatie de behandeling van keuze.³

Hoewel invasieve *Aspergillus fumigatus* infecties zeldzaam zijn, is IA een ernstige complicatie bij intensieve chemotherapie en persisterende neutropenie.⁴⁻⁶ Ondanks nieuwe meer effectieve antimycotica, blijft de mortaliteit bij neutropene patiënten hoog.⁷ Een persisterend actieve- of progressieve IA wordt daarom vaak beschouwd als een absolute contra-indicatie voor HSCT. Er wordt eerst gestreefd naar aantoonbaar herstel van IA bijvoorbeeld door chirurgische behandeling (bijvoorbeeld lobectomie bij een solitaire aspergilluslonghaard) en/of langdurige behandeling met antimycotica. In casus II is de goudenstandaardbehandeling van een IA in de sinus maxillaris een radicale chirurgische ingreep. Door de uitgebreidheid van de infectie zou deze ingreep te mutilerend zijn geweest. In casus I bleef ondanks langdurige combinatiebehandeling, sprake van aantoonbare aspergilloselesies. Verder uitstel van HSCT werd in de gepresenteerde casus niet opportuun geacht. Patiënten met hoogrisico-ALL, zoals in casus I en patiënten met beenmergfalen, zoals in casus II, lopen namelijk bij uitstel van mogelijk curatieve HSCT het risico te overlijden aan een recidief van de leukemie of aan bij hun diepe granulopenie opportune infecties.

Voor zowel casus I als casus II was er geen andere curatieve optie anders dan HSCT. Het toedienen van allogene donor-GT werd in deze 2 casussen als therapeutisch addendum gebruikt. In casus I werd zodoende getracht reactivering van de IA in de neutropene fase van HSCT te voorkomen. In casus II werd getracht de actieve IA effectiever te behandelen en zo de tijd tot hematopoëtische engraftment te overbruggen.^{8,9}

Tot nu toe zijn er geen internationale richtlijnen voor GT's, gerandomiseerde studies zijn tot op he-

den niet verricht of niet conclusief genoeg om de rol van GT's te kunnen bepalen.¹⁰ In Nederland zijn echter op basis van 'best clinical practice' aanbevelingen voor een uniforme richtlijn beschikbaar. Een landelijke consensus tussen academische centra en Sanquin regelt het keuren van de donor, de donorzorg zelf, de granulocytenafereprocedure, de bereiding van het GT-product, de toediening van het GT-product en de follow-up van zowel patiënt als donor.¹¹ Patiënten komen in aanmerking voor therapeutische GT indien zij een ernstige levensbedreigende infectie hebben en in persisterende neutropenie zijn zonder uitzicht op spoedig herstel. Na HSCT met een HLA-identieke donor is er een periode van 2 à 3 weken tot beginnend hematologisch herstel. Onze patiënten voldoen hiermee dus aan de criteria van de landelijke aanbevelingen. Pre-emptieve GT kan worden ingezet bij een niet-herstelde of subklinische actieve IA met risico op reactivering of progressie door verwachte (diepere) granulopenie, bijvoorbeeld een myeloablatieve conditionering zoals bij casus I.

Granulocyten die bij de bloedbewerking van vrijwillige bloeddonors vrijkomen, zouden in principe ook gebruikt kunnen worden voor GT. In Nederland zijn GT's tot nu toe afkomstig van granulocyten die uit het bloed van familieleden van de betrokken patiënt geoogst worden. Granulocyten donors hoeven niet HLA-identiek te zijn aan de patiënt. Er bestaat een zekere voorkeur de HLA-identieke stamceldonor niet als GT-donor te gebruiken om het risico op het ontwikkelen van HLA-antistoffen te voorkomen, ondanks het feit dat de kans hierop in ernstige immunogecompromitteerde patiënten zeer klein is. Het pre-existent aanwezig zijn van HLA-antistoffen bij zowel de donor als de patiënt is over het algemeen een contra-indicatie voor GT. Voor GT worden familieleden ouder dan 18 jaar op dezelfde wijze als onverwante hematopoëtische stamceldonors gekeurd.¹²



Hierbij wordt de donor volledig geïnformeerd ten aanzien van de bijwerkingen van de granulocytenmobilisatie in het bloed van de donor en de afereprocedure zelf. Schriftelijke 'informed consent' van de donor is noodzakelijk om de procedure door te laten gaan. Een onafhankelijke arts die niet direct betrokken is bij de behandeling van de patiënt is hierbij van groot belang.¹¹ Nadat de donor is goedgekeurd voor donatie wordt 12 uur voorafgaand aan een afereprocedure G-CSF in een dosering van 5 µg/kg subcutaan toegediend, samen met 8 mg dexamethason per os.¹³ Met deze medicatie wordt een snelle, tijdelijke verhoging van het percentage granulocyten in het perifere bloed bewerkstelligd, die door middel van fereses kunnen worden geoogst, voor onmiddellijke toediening aan de patiënt. Er wordt gestreefd om per GT 2-3 x 10⁹ granulocyten per kg lichaamsgewicht van de patiënt te oogsten (met een minimum van 8 x 10⁸ per kg van de patiënt). Bij major ABO-incompatibiliteit of irregulaire rode bloedcelantistoffen kan door middel van sedimentatie de hoeveelheid erythrocyten in het product worden geminimaliseerd. Het product kan in principe (deels) bewaard blijven (tot een maximum van 24 uur na afname), maar voor de meest optimale granulocytenfunctie heeft onmiddellijke toediening aan de patiënt de voorkeur. Door middel van regelmatige controles van bloedbeeld en bepaling van het aantal granulocyten wordt de patiënt gevolgd. Afhankelijk van de GT zijn dagelijks, of om de dag, GT's nodig om effectieve granulocytenaantallen in de patiënt te behouden. In de Nederlandse consensus wordt een donor maximaal 3 keer gestimuleerd en geoogst met als praktisch schema stimulatie op dag 1, 3 en 5 en fereses op dag 2, 4 en 6.

Conclusie

Aspergillusinfecties presenteren zich vaak specifiek in de immuungecompromitteerde patiënt. Patiënten met progressieve schimmelinfecties die een HSCT moeten ondergaan hebben een verhoogd mortaliteitsrisico tijdens de neutropene fase. Het onderliggend lijden van de patiënten maakt klaring van de aspergillusinfectie bij antischimmeltherapie problematisch. Door het toedienen van pre-emptieve GT kan HSCT succesvol worden uitgevoerd. Door GT toe te voegen aan de reguliere antimycotica is het mogelijk om patiënten die voorheen door IA niet transplantabel werden geacht, succesvol te transplanten.

Referenties

1. SKION - Jaarverslag 2008. Te raadplegen op: www.skion.nl (bekeken op 21 januari 2010).
2. Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Gratwohl A, Masszi T (ed). *Haematopoietic Stem Cell Transplantation. The EBMT Handbook. 5th edition, European School of Hematology, 2008, Paris.*
3. Van den Berg HM, Van Oostrom CG, Peters M, Tamminga RY. *Werkboek Kinderhematologie. 2e druk 2001. VU Boekhandel/Uitgeverij bv, Amsterdam.*
4. Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM. *Aspergillus Case-Fatality Rate: Systematic Review of the Literature. Clin Infect Dis 2001;32:358-66.*
5. Oren I, Haddad N, Finkelstein R, Rowe JM. *Invasive Pulmonary Aspergillus in Neutropenic Patients During Hospital Construction: Before and After Chemoprophylaxis and Institution of HEPA Filters. Am J Hematol 2001;66:257-62.*
6. Barnes PD, Marr KA. *Risks, diagnosis and outcomes of invasive fungal infections in haematopoietic stem cell transplant recipients. Br J Haematol 2007;139:519-31.*
7. Rüping MJ, Vehreschild JJ, Cornely OA. *Patients at High Risk of Invasive Fungal Infections. When and How to Treat. Drugs 2008;68:1941-62.*
8. Grigull L, Beilken A, Schmid H, Kirschner P, Sykora KW, Linderkamp C, et al. *Secondary prophylaxis of invasive fungal infections with combination antifungal therapy and G-CSF mobilized granulocyte transfusions in three children with haematological malignancies. Support Care Cancer 2006;14:783-6.*
9. Sachs UJ, Reiter A, Water T, Bein G, Woessman W. *Safety and efficacy of therapeutic early onset granulocyte transfusions in pediatric patients with neutropenia and severe infections. Transfusion 2006;46:1909-14.*
10. Massey E, Paulus U, Doree C, Stanworth S. *Granulocyte transfusions for preventing infections in patients with neutropenia or neutrophil dysfunction. Cochrane Database Syst Rev 2009;21:CD005341.*
11. Vrielink H, Meijer B, Van 't Ende E, Ball LM, Brand A, Zwaginga JJ. *Granulocyte donation for pediatric patients and the establishment of a national program and donor registry. Transfus Apher Sci 2009;41:73-6.*
12. Sacchi N, Costeas P, Hartwell L, Hurley CK, Raffoux C, Rosenmayr A, et al. *Haematopoietic stem cell donor registries: World Marrow Donor Association recommendations for evaluation of donor health. Bone Marrow Transplant 2008;42:9-14.*
13. Liles WC, Rodger E, Dale DC. *Combined administration of G-CSF and dexamethasone for the mobilization of granulocytes in normal donors: optimisation of dosing. Transfusion 2000;40:642-4.*

Ontvangen 21 oktober 2009, geaccepteerd 27 januari 2010.

Correspondentieadres

Mw. S.M. van Walraven, MSc MPA RN, physician
assistant SCT

Dhr. dr. W.J.W. Kollen, kinderarts-hematoloog

Mw. dr. L.M. Ball, kinderarts-hematoloog

Leiden Universitair Medisch Centrum

Willem Alexander KJC

Albinusdreef 2, J6-S-221

Postbus 9600

2300 RC Leiden

Tel: 071 526 91 11

E-mailadres: s.m.van_walraven@lumc.nl

Dhr. dr. J.J. Zwaginga, internist-hematoloog

Mw. R. Bongaerts, hoofdanalist

Afdeling Immunohematologie en Bloedtransfusie,

E3-Q

Mw. prof. dr. A. Brand, internist-hematoloog

Sanquin Bloedbank Regio Zuidwest

Postbus 2184

2301 CD Leiden

Correspondentie graag richten aan de eerste auteur.

Belangenconflict: geen gemeld.

Financiële ondersteuning: geen gemeld.