

Influence of mixed chimerism upon outcomes of allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT) in patients with non-malignant diseases

Larisa Vakhonina^{1,2}, Igor Vyatkin^{1,2}, Natalya Maysheva^{1,2}, Grigory Tsaur^{1,2}, Tatyana Riger^{1,2}, Anna Demina^{1,2}, Leonid Saveliy^{1,2,3}, Oleg Arakaev^{1,2}, Larisa Fechina^{1,2}

¹Regional Children's Hospital No.1, Ekaterinburg, Russia

²Research Institute of Medical Cell Technologies, Ekaterinburg, Russia

³Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia

Contact: Dr. Larisa Vakhonina

E-mail: vakhonina_larisa@mail.ru

Introduction

AlloSCT is the only curative option for treatment of hematological disorders with suppressed hematopoiesis and primary immune deficiencies. Nonmyeloablative conditioning (MAC) regimens lead to long persistence of mixed chimerism (MC) in majority of the patients. Purpose of our study was to estimate relationships between the type of hematopoietic chimerism and development of GVHD following alloSCT being performed in patients with non-malignant diseases.

Patients and methods

Eleven patients (8 boys and 3 girls) at a median age of 9 years (range 3 to 17) were included in this study, including seven 7 patients with severe aplastic anemia (SAA); two, with Fanconi anemia (FA); one case of thalassemia, one with Nijmegen syndrome. The patients were treated at the Pediatric Oncology and Hematology Center (Regional Children Hospital No.1) from 2008 to 2016. Stem cell donors were as follows: siblings (7 cases), nonrelated HLA-matched donors (n=4). Bone marrow aspirates and mobilized peripheral hematopoietic stem cells were used in 5 and 6 cases, respectively. Conditioning regimens included fludarabine, cyclophosphamide and horse ATG for SAA patients. For FA and Nijmegen syndrome patients, this schedule was augmented by low-dose busulfan treatment. In thalassemic patient, we used MAC with busulfan, fludarabine and horse ATG. In majority of cases, GVHD prophylaxis consisted of combined tacrolimus and methotrexate. In cases of unrelated alloSCT, the patients were additionally treated with mycophenolate mofetil. A median follow-up period was 30 mo (range 4-90). Quanti-

tative evaluation of donor chimerism was done by multiplex amplification of STR loci with subsequent fragment analysis using «COrDIS Plus» kit («Gordiz», Russia). We studied chimerism for the both marrow and peripheral blood cells, as well as for CD3+ and CD19+ lymphocyte subpopulations. Donor genotype of $\geq 99\%$ hematopoietic cells was considered a complete donor chimerism (CDC), whereas levels of $< 99\%$ were regarded as mixed chimeric state.

Results

All the patients did successfully engraft, and all these patients were alive at the present time. There were no severe life-threatening complications, infections, or graft rejection observed. Only two patients achieved CDC by the day +28, and only these patients retained complete chimerism at the day +100. At this time point, a mixed chimerism was most common in CD3+ lymphocytes. One year after SCT, a proportion of CDC patients increased up to 82% (2 patients are at earlier post-transplant terms). There were no correlations between the engraftment terms and chimerism values at the day +28, like as between the CD34+ cell dose transplanted, and chimerism levels ($p > 0.05$ in both cases). Interestingly, severe GVHD was noted in only two female patients with CDC at day +28. The first case exhibited grade III aGVHD following HSCT from a non-related donor; the second case showed extensive form chronic GVHD since 1 year after HSCT from a sibling. There were no other cases of severe (grade III-IV) aGVHD in the patients observed. Localized form of chronic GVHD was revealed in 4 cases (36%). In other patients, no signs of chronic GVHD were seen.

Conclusions

Despite limited number of observations, we assumed that fast achievement of CDC may be associated with severe GVHD. And, vice versa, long persistence of mixed chimerism seems to prevent the GVHD emergence. However, our findings should be confirmed in larger group of patients and, preferably, in multicenter settings.

Keywords

Allogeneic stem cell transplantation, severe graft-versus-host disease, chimerism.

Влияние смешанного химеризма на результаты аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) у пациентов с незлокачественными заболеваниями

Лариса В. Вахонина^{1,2}, Игорь Н. Вяткин^{1,2}, Наталья Г. Майшева^{1,2}, Григорий А. Цаур^{1,2}, Татьяна О. Ригер^{1,2}, Анна С. Демина^{1,2}, Леонид И. Савельев^{1,2,3}, Олег Р. Аракаев^{1,2}, Лариса Г. Фечина^{1,2}

¹Областная детская клиническая больница №1, Екатеринбург, Россия;

²НИИ медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия;

³Уральский медицинский университет, Екатеринбург, Россия

Введение

Аллогенная ТГСК является единственным радикальным методом терапии гематологических заболеваний с депрессией кроветворения и первичных иммунодефицитов. Немиелоаблативные режимы кондиционирования связаны с длительным сохранением смешанного химеризма (СХ) у значительной доли пациентов.

Целью исследования была оценка взаимосвязей между типом гемопоэтического химеризма и развитием РТПХ у пациентов с незлокачественными заболеваниями после аллогенной ТГСК.

Пациенты и методы

В исследование было включено 11 пациентов (8 мальчиков и 3 девочки), в т.ч. 7 человек со сверхтяжелой приобретенной апластической анемией, 2 с анемией Фанкони, 1 с талассемией, 1 с синдромом Ниймеген, получавшим лечение в Отделе детской онкологии и гематологии ОДКБ № 1 с 2008 по 2016 год. Медиана возраста на момент проведения ТГСК составила 9 лет (диапазон 3- 17 лет). В 7 случаях донорами являлись сиблинги, у 4-х пациентов ТГСК проведена от неродственных полностью HLA-совместимых доноров. В 5 случаях источником ГСК был костный мозг, в 6 случаях – периферическая кровь. Режимы кондиционирования были стандартными: флударабин, циклофосфан, лошадиный антиtimoцитарный иммуноглобулин у пациентов с приобретенными апла-

стическими анемиями; у пациентов с анемией Фанкони и синдромом Ниймеген дополнительно применяли низкие дозы бусульфана. Пациенту с талассемией проведено миелоаблативное кондиционирование: бусульфан, циклофосфан, лошадиный антиtimoцитарный иммуноглобулин. Профилактика РТПХ в большинстве случаев состояла из комбинации такролимуса и метотрексата. При проведении ТГСК от неродственных доноров пациенты получали дополнительно микофенолата мофетил. Медиана времени наблюдения составила 30 мес. (диапазон 4 – 90 мес). Количественный анализ гемопоэтического химеризма проводился с использованием набора COtDIS Plus (ООО «Гордиз», Россия) путем амплификации STR-маркеров с последующим фрагментным анализом. Анализировались цельная периферическая кровь и костный мозг, а также субпопуляциях Т-(CD3+) и В-(CD19+) лимфоцитов. Полный донорский химеризм (ПХ) определяли при наличии $\geq 99\%$ клеток донора. Под СХ понимали наличие менее 99% клеток донора.

Результаты

У всех пациентов зафиксировано приживление трансплантата. Все дети из анализируемой группы к настоящему моменту живы. Тяжелых, жизнеугрожающих инфекционных осложнений, отторжений трансплантата зафиксировано не было. Только 2 (18%) пациента на день +28 достигли ПХ. К дню +100 других пациентов, достигших полного ДХ, не было. Чаще всего СХ у этот срок был зафиксирован в Т-клеточной популяции лимфоцитов В тоже время через год после ТГСК доля

пациентов с ПХ увеличилась до 82% (2 пациента еще не достигли этого срока наблюдения). Не выявлено взаимосвязи между временем приживления и величиной химеризма на 28-й день, а также между дозой трансплантированных CD34+ клеток и величиной химеризма на 28-й день ($p > 0,05$ в обоих случаях). Интересно отметить, что наиболее яркие проявления РТПХ были у двух пациенток, достигших ПХ к 28 дню: в одном случае это была острая РТПХ 3 ст. после ТГСК от неродственного донора, во втором — экстенсивная форма хронической РТПХ, развившаяся через год после ТГСК от сиблинга. Других случаев острой РТПХ 3-4 ст. в исследуемой группе не зафиксировано. Локализованная форма хронической РТПХ выявлена у 4 (36%) пациентов. У остальных пациентов проявлений хронической РТПХ не было.

Выводы

Несмотря на ограниченное количество наблюдений можно предположить, что имеется зависимость между быстрым установлением ПХ, его постоянным существованием и развитием тяжелых форм РТПХ. И, наоборот, длительное сохранение СХ, являющееся естественным отражением гематопозитической реконституции после проведения немиелоаблативных режимов кондиционирования, препятствует возникновению тяжелых форм РТПХ. Однако это требует подтверждения на большем количестве наблюдений, желательно в рамках мультицентрового исследования.

Ключевые слова

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, реакция «трансплантат против хозяина», химеризм.