

---

## ***Samenvatting voor niet-ingewijden***

---

---

Bij diverse kwaadaardige en enkele niet-kwaadaardige hematologische ziektebeelden biedt een allogene stamceltransplantatie met stamcellen van een donor (allogene SCT) de enige kans op genezing. Een SCT is een zware behandeling met diverse mogelijke complicaties. Eén van die complicaties betreft het optreden van opportunistische infecties, dit zijn infecties die je bij mensen met een normale afweer vrijwel niet ziet. De toegenomen vatbaarheid voor infecties is het gevolg van een sterk verminderde afweer (immuundeficiëntie) tijdens de post-transplantatie fase. Geleidelijk herstelt de afweer (immunitet) zich, maar met name gedurende de eerste 6 maanden post-transplantatie is deze sterk gestoord. In de introductie (**Hoofdstuk 1**) wordt deze immuundeficiëntie beschreven. Kort na de SCT is juist de vatbaarheid voor bacteriële en schimmel infecties verhoogd, terwijl na enige weken vooral virus infecties een belangrijke bedreiging vormen. Zowel het Epstein-Barr virus (EBV) als het Cytomegalovirus (CMV) behoort tot de groep van herpes virussen. Herpes virussen blijven na een eerste ofwel primo-infectie latent in het lichaam aanwezig. Het merendeel van de mensen raakt tijdens de kinderjaren met deze virussen geïnficeerd. Bij gezonde mensen worden die virussen onder controle gehouden door specifieke afweer cellen (cytotoxische T cellen). Dit is niet het geval bij immuundeficiënte mensen, zoals patiënten die een SCT hebben ondergaan. Bij deze patiënten vertonen herpes virussen frequent een reactivatie, hetgeen kan leiden tot ernstige en vaak fatale ziektebeelden. In dit proefschrift worden diverse aspecten van de T cel immuundeficiëntie en EBV en CMV infecties na allogene SCT bestudeerd.

De mate van immuundeficiëntie in de post-transplantatie fase wordt door verschillende factoren bepaald, zoals de leeftijd van de patiënt, de ontwikkeling van een omgekeerde afstotingsreactie (“graft-versus-host disease”, GVHD) en het gebruik van afweeroonderdrukkende medicijnen (immuunsuppressiva). GVHD is een complicatie die veroorzaakt wordt door afweercellen van de donor in het transplantaat (de “graft”). Deze donor cellen herkennen de patiënt (de “host”) als vreemd en gaan daar een afweerreactie tegen ontwikkelen. Bij het zoeken naar een potentiële donor worden specifieke weefselkenmerken van zowel patiënt als donor in kaart gebracht (HLA-typering). De beoogde donor moet een gelijke HLA-typering hebben als de patiënt. De kans op GVHD is groter als gebruik gemaakt wordt van niet verwante donoren of van familiedonoren die niet volledig passend zijn. Patiënten die een allogene SCT hebben ondergaan, krijgen immuunsuppressiva om de GVHD te voorkomen of te beperken. In sommige instituten worden de transplantaten (gedeeltelijk) ontdaan van T

cellen (T cel depletie) om de kans op het optreden van de omgekeerde afstotingsreactie te verminderen. Deze T cel depletie is mogelijk ook een factor die bijdraagt aan de ernst van de immuundeficiëntie, tezamen met het gebruik van niet verwante donoren of gedeeltelijk passende familiedonoren en met de bron van stam cellen (bloed of beenmerg).

Bij ontvangers van een T cel gedepleteerd transplantaat van een onverwante donor bestaat een verhoogde kans op afstoting van het transplantaat (graft failure). Deze afstoting wordt veroorzaakt door resterende T cellen van de patiënt. Antithymocytenoglobuline (ATG) is een middel dat een T cel depletie in het lichaam bewerkstelligt. Toediening van het middel vermindert de kans op afstoting van het transplantaat en tevens vermindert het ook de kans op het optreden van GVHD. In **Hoofdstuk 2** wordt het effect van ATG op het herstel van de immuniteit en op het optreden van GVHD bestudeerd in ontvangers van een T cel gedepleteerd transplantaat van onverwante donoren en vergeleken met ontvangers van een familietransplantaat. Het kwantitatieve herstel van specifieke afweercellen (T cellen, NK cellen en B cellen) werd bepaald 2, 3, 6 en 8 maanden na transplantatie. Bij de ontvangers van een familietransplantaat ("matched related donor", MRD groep) werden significant hogere T cel waarden gemeten, terwijl zij minder T cellen via het transplantaat toegediend kregen en frequenter zowel acute als chronische GVHD ontwikkelden vergeleken met ontvangers van een transplantaat van onverwante donoren ("matched unrelated donor", MUD groep). Deze gegevens suggereren dat ATG een belangrijke beperkende factor is met betrekking tot het herstel van T cel aantallen in MUD patiënten. Echter, ATG resulteert tevens in een lagere incidentie en ernst van GVHD.

In **Hoofdstuk 3** wordt het effect van 3 verschillende ATG doseringen (8 mg/kg, 6 mg/kg en 4 mg/kg) op de incidentie van graft failure en GVHD geëvalueerd. Het optreden van graft failure en GVHD werd niet beïnvloed door een dosisverlaging van 8 mg/kg naar 6 mg/kg. Echter, bij een verlaging naar 4 mg/kg nam de incidentie van ernstige acute GVHD (graad III-IV) en uitgebreide chronische GVHD dramatisch toe, zonder het optreden van graft failure te beïnvloeden.

EBV reactivaties of primo/re-infecties kunnen, wanneer ze optreden bij immuundeficiënte personen, leiden tot een ernstig ziektebeeld: een EBV-geassocieerde lymfoproliferatie (EBV-LPD). Dit betreft een woekering van specifieke afweercellen, B cellen, onder invloed van het EBV virus, wat bij SCT patiënten binnen enkele dagen een fatale afloop kan hebben. Het EBV virus heeft zich na een primo-infectie in latente vorm in B cellen verstoep. Zonder ade-

---

quate T cel immuniteit kan het virus gaan groeien. Een EBV reactivatie, primo/re-infectie of chronisch actieve infectie kan aangetoond worden middels een EBV DNA bepaling in bloed of plasma. Het totale EBV DNA in bloed is de resultante van een latente infectie en een actieve infectie, terwijl EBV DNA in plasma specifiek een actieve infectie weergeeft. In **Hoofdstuk 4** wordt beschreven dat EBV reactivaties met name frequent voorkomen bij MUD patiënten die een T cel gedepleteerd transplantaat ontvangen en met ATG worden behandeld. In deze studie wordt tevens getoond dat EBV DNA in plasma een voorspellende waarde heeft met betrekking tot het optreden van een EBV-LPD. De negatief en positief voorspellende waarde van een virale load van 1000 copieën (c)/ml was 100% en 39%, respectievelijk. Bij ontvangers van een niet-T cel gedepleteerd transplantaat werd geen EBV-LPD vastgesteld, wel werden EBV reactivaties gezien in deze groep. Het gebruik van ATG was een belangrijke risicofactor voor het optreden van EBV reactivaties.

Tot op heden is niet bekend of een EBV reactivatie werkelijk een reactivatie van de endo-geen aanwezige patiënten stam is of dat er een re-infectie met een exogene stam heeft plaatsgevonden. Er zijn aanwijzingen dat de voorbehandeling voor de transplantatie in staat is de eigen stam te vernietigen. In **Hoofdstuk 5** worden preliminaire data gepresenteerd betreffende de EBV stam identificatie in 6 patiënten. Ook tijdens een latente infectie wordt het EBV in mondspeeksel uitgescheiden. Mondspeeksel is daardoor de belangrijkste transmissiebron van het virus. Dit verklaart waarom een primo-infectie met EBV (“Pfeiffer”) ook wel de “kissing-disease” wordt genoemd. Mondspeeksel is bij latent geïnfecteerde personen de belangrijkste bron voor virusisolatie. We hebben aldus bij alle patiënten en, indien mogelijk, bij donoren voorafgaande aan de transplantatie mondspoelingen verzameld om het EBV virus te isoleren en te karakteriseren. Na de transplantatie werd het virus geïsoleerd uit plasma, bloedcellen en opnieuw mondspoelingen. Bij 3 van de 6 patiënten verschilde de post-transplantatie stam van de pre-transplantatie stam. Dit geeft aan dat bij deze personen een re-infectie heeft plaatsgevonden in plaats van een reactivatie. Bij één MRD patiënt kon geen onderscheid gemaakt worden, daar de pre-transplantatie, post-transplantatie en donor stammen identiek waren (hetgeen niet ongebruikelijk is binnen families). Bij de laatste twee patiënten is er meest waarschijnlijk sprake geweest van een reactivatie, hoewel een re-infectie bij deze twee niet met 100% zekerheid was uit te sluiten.

De kans een EBV-LPD te ontwikkelen wordt mede bepaald door de techniek die gebruikt wordt om de T cel depletie van het transplantaat te verrichten. In **Hoofdstuk 6** wordt het effect van verschillende T cel depletie technieken geanalyseerd met betrekking tot de inci-

dentie van EBV-LPD in MRD en MUD ontvangers. De MUD patiënten werden tevens behandeld met ATG. Als de MUD transplantaten zowel van T als B cellen ontdaan werden, ontwikkelde 13% (4/31) van de patiënten een EBV-LPD vergeleken met 71% (5/7) van de patiënten indien geen B cel depletie verricht werd. Een T/B cel ratio in het transplantaat van  $\geq 0.25$  lijkt voldoende om de incidentie van EBV-LPD bij MUD patiënten in belangrijke mate te verminderen. Bij ontvangers van familietransplantaten werd de incidentie van EBV-LPD niet beïnvloed door B cel depletie (5% in de groep waarbij B en T cel depletie werd verricht; 4 % als alleen T cel depletie werd verricht). Dit kan goed verklaard worden door het gebruik van ATG in de MUD ontvangers, leidende tot een nog sterker gestoorde disbalans tussen geïnfecteerde B cellen en beschermende T cellen. Het feit dat B cel depletie van het transplantaat beschermt tegen EBV-LPD, pleit tevens voor de hypothese dat een EBV reactivatie niet werkelijk een reactivatie is, maar eerder een re-infectie vanuit donor B cellen (zie Hoofdstuk 5).

Ter afsluiting van het onderdeel EBV infecties wordt in **Hoofdstuk 7** een overzicht gegeven van de preventie en behandeling van EBV-LPD in ontvangers van SCT en van solide orgaan transplantaties (bijvoorbeeld nier-, hart-, lever- en darmtransplantaties). De risicofactoren voor het ontwikkelen van een EBV-LPD worden beschreven alsook richtlijnen voor het monitoren van de EBV DNA virale load. Tevens worden de verschillende behandelingsmodaliteiten samengevat en aanbevelingen gegeven met betrekking tot behandeling.

Een reactivatie van het CMV virus kan leiden tot CMV ziekte. Deze CMV ziekte uit zich in de vorm van een longontsteking, maag/darm/leverontsteking of netvliesontsteking. De meest ernstige vorm van CMV ziekte is de longontsteking die zonder behandeling bij 80% van de patiënten een fataal beloop heeft. Tegenwoordig zijn er antivirale middelen beschikbaar, echter ook met het gebruik hiervan overlijdt 30-50% van de mensen met CMV longontsteking. Ook CMV reactivaties kunnen in het bloed aangetoond worden middels diverse technieken. Veel centra maken hier gebruik van en starten met antivirale therapie op het moment dat het CMV in bloed aantoonbaar is (pre-emptieve behandeling). Dit heeft geresulteerd in een enorme afname van het optreden van CMV ziekte en overlijden hieraan. Sommige centra kiezen voor een andere optie, namelijk het constante gebruik van antivirale medicatie tot een zeker tijdstip (profylactische behandeling). In tegenstelling tot het EBV virus, geeft het CMV virus bij SCT patiënten zelden primo- of re-infecties, mits de juiste voorzorgsmaatregelen genomen worden. Dus alleen de CMV-seropositieve patiënten, die

---

patiënten die in het verleden een CMV infectie hebben doorgemaakt en waarbij het virus nu latent aanwezig is, hebben kans op een reactivatie. Ondanks de pre-emptieve behandelstrategie beschouwen veel transplantatie centra CMV-seropositiviteit nog steeds als een negatieve risicofactor voor het overleven na een SCT.

In **Hoofdstuk 8** wordt het effect van de CMV serostatus op de overleving en transplantatie gerelateerde mortaliteit geanalyseerd in MRD patiënten (n=205) en MUD patiënten (n=48) die tussen Juli 1990 en Mei 2000 in het UMCU werden getransplanteerd. Daar CMV overgedragen kan worden via witte bloedcellen (leucocyten), kregen alle patiënten leucocytenarme bloedprodukten. Er werd een pre-emptieve behandelstrategie gevoerd bij CMV reactivaties. Tevens werd een kortdurende profylactische antivirale behandeling gegeven aan CMV-seropositieve patiënten met een acute GVHD die met prednison in hoge dosering behandeld moesten worden. Deze patiëntengroep heeft een vergroot risico op CMV reactivaties. Bij de MRD patiënten bleek CMV-seropositiviteit geen negatieve risicofactor voor de overleving post-transplantatie te zijn. Bij MUD patiënten, daarentegen, was de overleving van CMV-seropositieve patiënten sterk verlaagd ten opzichte van CMV-seronegatieve patiënten, grotendeels veroorzaakt door fatale infecties.

Deze bevinding in MUD patiënten is ook door anderen gerapporteerd. Echter, het merendeel van de studies is verricht onder patiënten die voor het jaar 1999 behandeld werden. In **Hoofdstuk 9** wordt onderzocht of de overleving van MUD patiënten die getransplanteerd zijn sinds 1999 nog steeds beïnvloed wordt door de CMV serostatus. In ons transplantatiecentrum werden in 1999 twee belangrijke wijzigingen in het transplantatie regime doorgevoerd. Ten eerste werd de ATG dosering verlaagd van 20 mg/kg naar 8 mg/kg. Ten tweede werd een veel gevoeliger techniek voor HLA typering ingevoerd (sequence based typing van HLA-DRB1). Beide veranderingen zouden een beter immuunherstel in de post-transplantatie fase tot gevolg kunnen hebben. De dosis verlaging van ATG door een direct effect op het aantal T cellen en de verbeterde weefseltypering middels een betere donor keuze door een verlaagde incidentie van GVHD. Gezien het immuunsuppressieve effect van (latente) CMV infecties, zouden deze wijzigingen de overleving van CMV-seropositieve MUD patiënten positief kunnen beïnvloeden. In totaal 80 patiënten ontvingen een gedeeltelijk T cel gedepteerd transplantaat, 36 voor 1999 en 44 na 1999. Bij CMV-seropositieve patiënten die voor 1999 getransplanteerd werden, werd een sterk verlaagde overleving gezien vergeleken met CMV-seronegatieve patiënten (zie ook Hoofdstuk 8). Bij patiënten die na 1999 getrans-

planteerd werden, echter, was geen verschil waarneembaar tussen de twee groepen wat betreft overleving en transplantatie gerelateerde mortaliteit.

Ter afsluiting van het onderdeel CMV infecties wordt in **Hoofdstuk 10** een overzicht gegeven van de preventie van CMV ziekte bij ontvangers van allogene SCT. De twee eerder genoemde antivirale strategieën (pre-emptief en profylactisch) worden besproken en aanbevelingen met betrekking tot de preventie van CMV ziekte worden gegeven. Tevens worden enige andere aspecten van de preventie van CMV ziekte samengevat: 1) beschikbare methoden voor de monitoring van CMV reactivaties, 2) monitoring van CMV-specifieke T cel immuniteit, 3) de waarde van verschillende antivirale middelen en 4) van immunotherapie als profylactische of pre-emptieve behandeling van CMV reactivaties/CMV ziekte.

Concluderend kan gesteld worden dat ontvangers van allogene SCT ernstig immuungecompromiteerd zijn gedurende tenminste de eerste 6 maanden post-transplantatie. Dit geldt vooral voor ontvangers van transplantaten van onverwante donoren. Echter, enkele belangrijke veranderingen in het transplantatie programma hebben de transplantatie gerelateerde mortaliteit onder MUD patiënten in sterke mate doen afnemen. B cel depletie van de transplantaten (naast de T cel depletie), de dosis verlaging van ATG en de verbeterde weefseltypering (sequence based typing van HLA-DRB1) hebben allemaal bijgedragen aan deze verminderde mortaliteit. De dosis verlaging van ATG en de sequence based typing van HLA-DRB1 hebben mogelijk geleid tot een minder ernstige immuundeficiëntie, waardoor het effect van de CMV-seropositiviteit niet meer klinisch relevant is. In MRD patiënten bleek dat met het toepassen van een pre-emptieve behandelstrategie van CMV reactivaties, CMV-seropositiviteit geen risicofactor is voor slechtere overleving danwel toegenomen transplantatie gerelateerde mortaliteit. De optimale ATG dosering is niet bekend, echter, gezien de immuunsuppressieve en direct toxische effecten van ATG moet de laagst mogelijke dosis gebruikt worden. Bij SCT met (gedeeltelijk) T cel gedepleteerde transplantaten van onverwante donoren, waarbij post-transplantatie slechts een beperkte immuunsuppressie toegepast wordt bestaande uit cyclosporine, wordt een totale dosis van 6-8 mg/kg aanbevolen. Een verdere dosisreductie heeft geleid tot een sterk verhoogde incidentie van ernstige (graad III-IV) acute GVHD.

In de toekomst moet gewerkt worden aan een verdere verbetering van het immunologische herstel tijdens de post-transplantatie fase. Nieuwe methoden moeten ontwikkeld en geïmplementeerd worden betreffende de monitoring, preventie en behandeling van opportunisti-

---

sche infecties. Voor de specifieke preventie van EBV-LPD is het noodzakelijk meer inzicht te verkrijgen in de origine van de EBV infecties in de post-transplantatie fase.