

# PRAKTYCZNE ASPEKTY TERAPII CAR-T U DZIECI Z OSTRĄ BIAŁACZKĄ LIMFOBLASTYCZNĄ Z KOMÓREK B W POLSCE – REKOMENDACJE POLSKIEGO TOWARZYSTWA ONKOLOGII I HEMATOLOGII DZIECIĘCEJ

## PRACTICAL ASPECTS OF CAR-T CELL THERAPY IN CHILDREN WITH B-CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA IN POLAND – RECOMMENDATIONS OF THE POLISH SOCIETY FOR PEDIATRIC ONCOLOGY AND HEMATOLOGY

Paweł Marschollek<sup>1</sup>, Karolina Liszka<sup>1</sup>, Monika Mielcarek-Siedziuk<sup>1</sup>, Ewa Gorczyńska<sup>1</sup>,  
Tomasz Szczepański<sup>2</sup>, Wojciech Młynarski<sup>3</sup>, Jan Styczyński<sup>4</sup>, Katarzyna Derwich<sup>5</sup>, Krzysztof Kałwak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

<sup>2</sup> Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii Dziecięcej w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>3</sup> Klinika Pediatrii, Onkologii i Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

<sup>4</sup> Katedra Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy

<sup>5</sup> Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

### STRESZCZENIE

Terapia limfocytami T z chimerycznym receptorem antygenowym (CAR-T) to przełom w leczeniu ostrej białaczki limfoblastycznej (*acute lymphoblastic leukemia* – ALL). W Polsce dla dzieci zarejestrowany jest jeden preparat CAR-T – tisagenlecleucel (Kymriah®), mający chimeryczny receptor anty-CD19. Niniejsze rekomendacje opracowano jako konsensus ekspertów Zespołu Koordynacyjnego ds. CAR-T w Polsce. Od 1 września 2021 r. terapia jest finansowana w Polsce przez Narodowy Fundusz Zdrowia, zgodnie ze wskazaniami refundacyjnymi. Obejmują one pacjentów do 25. r.ż. z pB-ALL, która jest oporna na leczenie lub w fazie drugiego albo kolejnego nawrotu, lub nawrotu po transplantacji. Wyniki długofalowej analizy potwierdziły skuteczność terapii CAR-T. Czas potrzebny na przygotowanie komórek – od aferezy do podania – wynosi zazwyczaj 3-4 tygodnie. Kwalifikacja do terapii powinna nastąpić jak najszybciej po spełnieniu kryteriów. Opóźnienie leukaferazy może się wiązać z pogorszeniem stanu ogólnego pacjenta, wystąpieniem infekcji, pogorszeniem liczby i funkcji limfocytów CD3+. W trakcie oczekiwania na przygotowanie preparatu stosuje się chemioterapię pomostową. Zarówno w przypadku aferezy, jak i podania komórek należy uwzględnić czas eliminacji stosowanych wcześniej leków. Najczęściej występujące powikłania po terapii CAR-T to zespół uwalniania cytokin i neurotoksyczność, które należy różnicować przede wszystkim z rozwijającą się sepsą. Po 2-3-tygodniowej obserwacji można rozważyć wypis ze szpitala, pod warunkiem dobrego stanu ogólnego, braku infekcji czy konieczności transfuzji. Kontrolne punkcje szpiku z oceną choroby resztkowej (*minimal residual disease* – MRD) należy zaplanować po 28, 100 i 180 dniach, a także po roku od infuzji. Cytopenie we wszystkich trzech liniach są dość częste, pacjenci zwykle nie wymagają transfuzji, mogą jednak wymagać podaży czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów (*granulocyte colony-stimulating factor* – G-CSF). Hipogammaglobulinemia, będąca skutkiem aplazji limfocytów B, powoduje konieczność okresowej substytucji immunoglobulin. Przeciwwskazane, poza sytuacjami zagrożenia życia, jest stosowanie ogólnoustro-

jowych glikokortykosteroidów ze względu na ryzyko negatywnego wpływu na funkcje i żywotność komórek CAR-T. Jednym z największych wyzwań po terapii jest ryzyko utraty ekspresji antygenu CD19 na komórkach białaczkowych.

**Słowa kluczowe:** ostra białaczka limfoblastyczna, komórki CAR-T, tisagenlecleucel, immunoterapia, leukafereza

## ABSTRACT

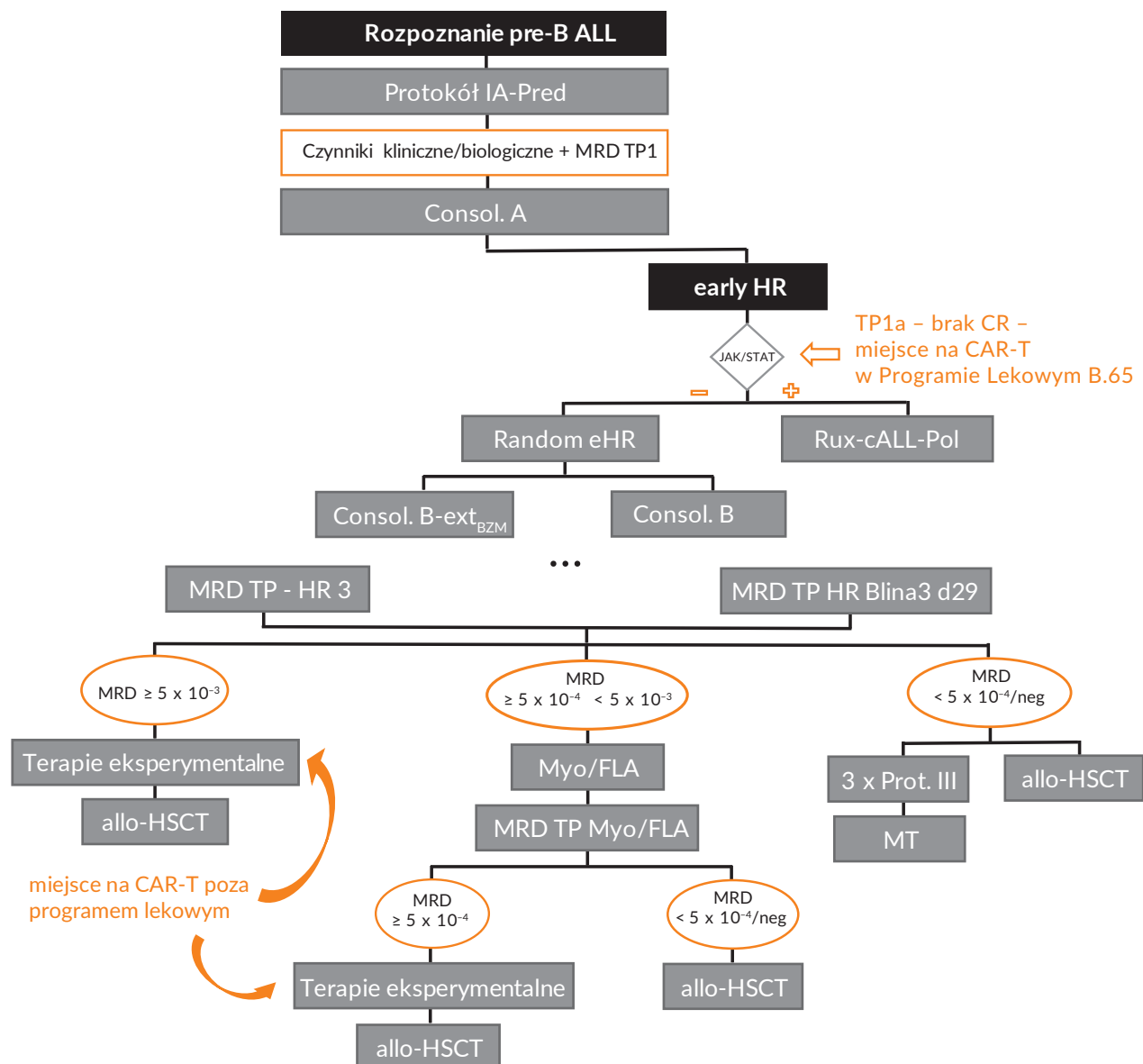
Chimeric antigen receptor T-cell therapy (CAR-T) is a breakthrough in the B-cell malignancies management. In children, a single CAR-T cell product is registered in Poland – tisagenlecleucel (Kymriah®), with chimeric anti-CD19 receptor. These recommendations were developed as a consensus of experts within the Coordinating Team for CAR-T in Poland. From September 1, 2021, the therapy is financed in Poland by the National Health Fund, in particular indications. Eligibility criteria include patients up to 25 y.o. with refractory pB-ALL or in the second or subsequent relapse or in relapse after transplantation. Qualification should take place as soon as possible after meeting the criteria. Leukapheresis delay may be associated with patient's worse general condition, infections and deterioration of CD3+ lymphocytes' number and function. While waiting for the CAR-T, bridging chemotherapy is used. Both before the apheresis and infusion, the washout of previously used drugs must be considered. The most common complications after administration are cytokine release syndrome and neurotoxicity. After 2-3 weeks of observation, if no complications occur, discharge from the hospital may be considered. Bone marrow biopsies with minimal residual disease (MRD) assessment should be scheduled at days 28, 100, 180 and 1 year post infusion. Cytopenias are common after therapy, usually with no need for blood transfusions, although patients may require periodic granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) administration. Hypogammaglobulinaemia necessitates periodic immunoglobulins substitution. Contraindicated, except in life-threatening situations, is the use of systemic glucocorticosteroids due to the negative effect on CAR-T cell function and persistence. One of the biggest challenges is the risk of potential loss of CD19 expression on leukemia cells.

**Key words:** acute lymphoblastic leukemia, CAR-T cell, tisagenlecleucel, immunotherapy, leukapheresis

Terapia z zastosowaniem komórek CAR-T, czyli limfocytów T z chimerycznym receptorem antygenowym (*chimeric antigen receptor* – CAR), to przełom w leczeniu dzieci z nowotworami hematologicznymi. Metoda ta łączy w sobie elementy terapii genowej i komórkowej [1]. Dzięki technikom inżynierii biomedycznej uzyskuje się limfocyty T ze zmodyfikowanym receptorem antygenowym, który potrafi specyficznie rozpoznawać komórki nowotworowe [2]. Chimeryczny receptor antygenowy to cząsteczka zbudowana z domen wiążących antygen, pochodzących z przeciwciała i z domeny aktywującej pochodzącej z kompleksu receptora limfocyty T. Po zetknięciu z antygenami nowotworowymi komórki CAR-T stają się cytotoksyczne. Największą zaletą CAR jest mechanizm rozpoznawania antygenów na komórkach nowotworowych. W przeciwieństwie do fizjologicznego receptora limfocytów T, który rozpoznaje antygen w kompleksie z białkiem głównego układu zgodności tkankowej (*major histocompatibility complex* – MHC), CAR bezpośrednio wiąże antygeny nowotworowe, niezależnie od antygenów

zgodności tkankowej [2, 3]. Skuteczność leczenia komórkami CAR-T opiera się na ich bezpośredniej cytotoksyczności przeciwnowotworowej, zdolności do proliferacji *in vivo* i pobudzaniu specyficznej aktywności przeciwnowotworowej limfocytów T [4]. Można wyróżnić komórki CAR-T pochodzenia autologicznego i allogenicznego. Komórki autologiczne uzyskuje się metodą aferezy od pacjenta, a komórki allogeniczne – od zdrowego dawcy [3]. Warto zauważyć, że limfocyty izolowane od pacjentów, u których przeprowadzono wcześniej allotransplantację krwiotwórczych komórek macierzystych (*allogeneic hematopoietic stem cell transplantation* – allo-HSCT), są *de facto* pochodzenia allogenicznego.

Badania nad komórkami CAR-T rozpoczęto na przełomie lat 80. i 90. ubiegłego wieku w Izraelu [5]. Komórki pierwszej generacji nie były skuteczne klinicznie, lecz badania nad terapią rozwijano dalej przez kolejnych 30 lat. Doskonalono technologie wytwarzania komórek CAR-T, m.in. dodając do zmodyfikowanego receptora antygenowego kolejne cząsteczki kostymulujące. Wraz z powstawaniem ko-



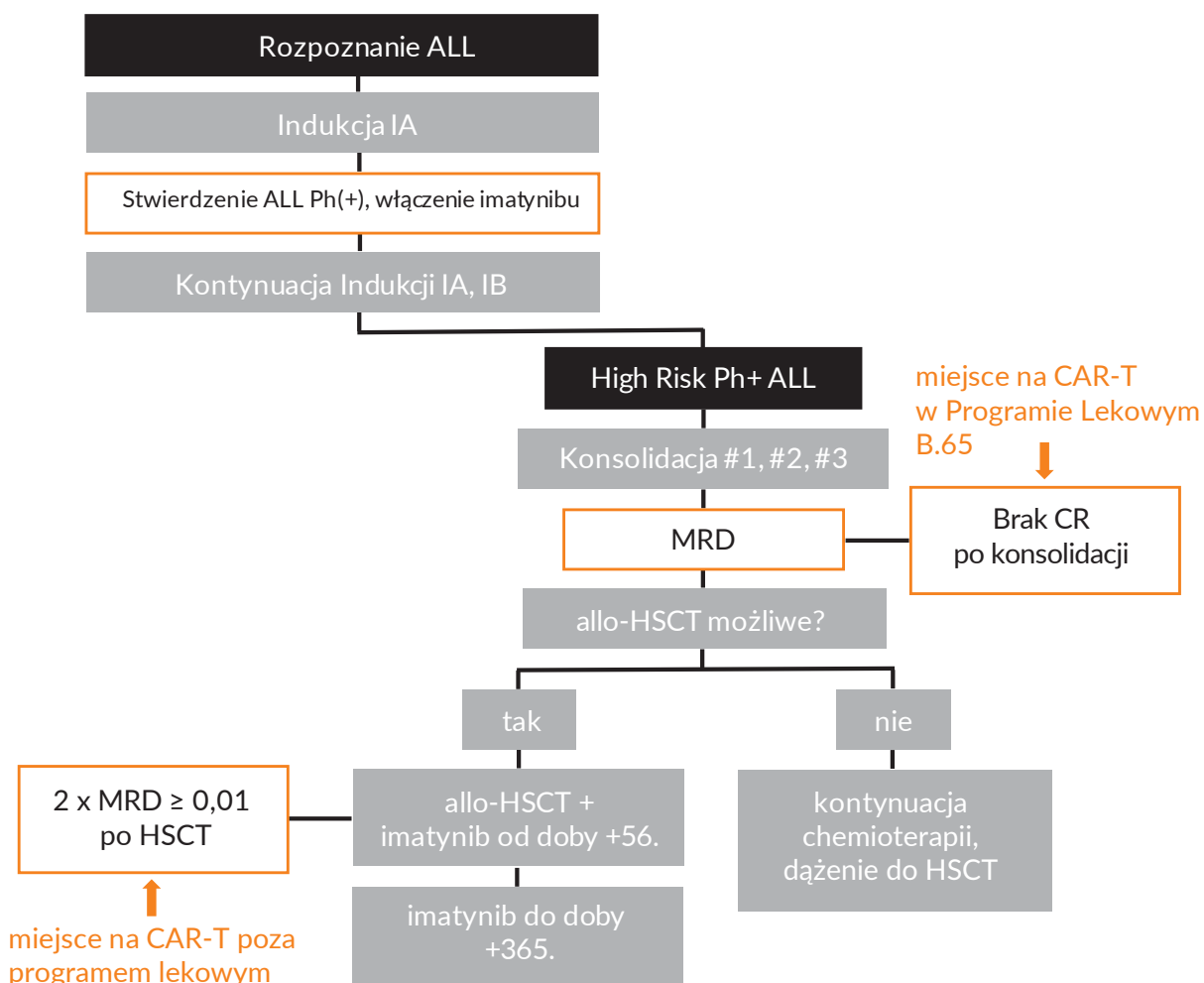
**Ryc. 1.** Miejsce na terapię CAR-T w leczeniu ALL CD19+ pierwotnie odpornej na leczenie. ALL – ostra białaczka limfoblastyczna; CAR-T – limfocyty T z chimerycznym receptorem antygenowym; CR – całkowita remisja; MRD – minimalna choroba resztkowa; allo-HSCT – allogeniczny przeszczep macierzystych komórek krwiotwórczych.

**Fig. 1.** The place for CAR-T cell therapy in the treatment of primary refractory CD19+ ALL. ALL – acute lymphoblastic leukaemia; CAR-T – chimeric antigen receptor T-cells; CR – complete remission; MRD – minimal residual disease; allo-HSCT – allogenic hematopoietic stem cell transplantation.

lejszych generacji komórek CAR-T uzyskiwano poprawę ich skuteczności przeciwnowotworowej, oporności na apoptozę i długości przeżycia chorego [6].

Pierwszą pacjentką leczoną skutecznie z wykorzystaniem tego rodzaju immunoterapii była Emily Whitehead, 12-letnia wówczas dziewczynka z nawrotową i oporną postacią ostrej białaczki limfoblastycznej (*acute lymphoblastic leukaemia* – ALL), która otrzymała komórki CAR-T w 2012 r. w Filadelfii. Pacjentka jest w remisji już 9 lat [7].

W Polsce dla dzieci aktualnie jest zarejestrowany jeden preparat komórek CAR-T – tisagenlecleucel (Kymriah®) – mający chimeryczny receptor anty-CD19. Od 1 września 2021 r. terapia jest refundowana zgodnie z Programem Lekowym B.65. Wskazania refundacyjne obejmują pacjentów do 25. r.ż. z ALL z komórek B (również z wyjściowym zajęciem ośrodkowego układu nerwowego, pod warunkiem że nie stwierdza się go w momencie kwalifikacji do programu), która jest oporna na leczenie (ryc. 1), znajduje się w fazie drugiego lub kolejnego nawrotu szpiko-



**Ryc. 2.** Miejsce na terapię CAR-T w Protokole EsPhALL2017. ALL – ostra białaczka limfoblastyczna; Ph(+) – obecność chromosomu Philadelphia t(9;22); CAR-T – limfocyty T z chimerycznym receptorem antygenowym; CR – całkowita remisja; MRD – minimalna choroba resztkowa; allo-HSCT – allogeniczny przeszczep macierzystych komórek krwiotwórczych.

**Fig. 2.** The place for CAR-T cell therapy in the EsPhALL2017 Protocol. ALL – acute lymphoblastic leukaemia; Ph(+) – Philadelphia chromosome t(9;22); CAR-T – chimeric antigen receptor T-cells; CR – complete remission; MRD – minimal residual disease; allo-HSCT – allogenic hematopoietic stem cell transplantation.

wego, w fazie nawrotu po transplantacji lub występują przeciwwskazania do allo-HSCT. Uwzględnieni są również pacjenci z oporną ALL z obecnością chromosomu Philadelphia, u których leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej (*tyrosine kinase inhibitor* – TKI) jest nieskuteczne lub nietolerowane (ryc. 2). Dokładne definicje przedstawiono w tabeli I.

Bezpieczeństwo stosowania tisagenlecleucelu było ocenione w badaniach klinicznych. Wyniki długofalowej analizy potwierdziły skuteczność terapii CAR-T i trwałą odpowiedź na leczenie [całkowity wskaźnik remisji wyniósł 82,3% – 65 dzieci, dodatkowo 64 z nich uzyskało ujemny wynik badania choroby resztkowej (*minimal residual disease* – MRD)]. Prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od wznowy było równe 66,3% po 18 miesiącach obserwacji [8, 9].

Podobne rezultaty przedstawia analiza danych z wielośrodkowego badania CIBMTR [10]. Potwierdzono, że tisagenlecleucel pozostaje obecny w krwi i szpiku pacjentów przez okres dłuższy niż 2 lata, a ponadto penetruje do płynu mózgowo-rdzeniowego.

W 2017 r. tisagenlecleucel uzyskał rejestrację amerykańskiej Agencji Żywności i Leków (*Food and Drug Administration* – FDA), następnie w 2018 r. zatwierdziła go Europejska Agencja Leków (*European Medicines Agency* – EMA). W listopadzie 2019 r. Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej we Wrocławiu „Przylądek Nadziei” została pierwszym w Polsce akredytowanym ośrodkiem pediatrycznym prowadzącym terapię CAR-T. Pierwszą terapię przeprowadzono zaledwie kilka miesięcy później, w marcu 2020 r., pacjentem był chłopiec

**Tabela I.** Wskazania refundacyjne terapii CAR-T dla dzieci w ramach Programu Lekowego B.65 i przeciwwskazania do włączenia pacjenta**Table I.** Eligibility criteria and contraindications for CAR-T therapy for children as part of the B.65 drug program

Wskazanie	Definicja
Pierwotna oporność na leczenie	Nieosiągnięcie całkowitej remisji (CR) po 2 cyklach standardowej chemioterapii – brak remisji hematologicznej w punkcie TP1a, tj. ok. 64. doby włącznie leczenia indukcyjnego według protokołu AIEOP-BFM 2017 POLAND
Wtórna oporność na leczenie	Nieosiągnięcie CR po jednym cyklu leczenia reindukującego stosowanego w nawrocie ALL (zarówno w grupie standardowego, jak i wysokiego ryzyka)
Wznowa choroby	Drugi lub kolejny nawrót w szpiku kostnym
Wznowa choroby po transplantacji	Nawrót (w szpiku kostnym) po przeszczepieniu allogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT) i po co najmniej 4 miesiącach przerwy między allo-HSCT a podaniem tisagenlecleucelu (czyli już w przypadku wznowy, która wystąpi w trzecim miesiącu po HSCT, można kwalifikować do terapii)
Oporna ALL z obecnością chromosomu Philadelphia	Niepowodzenie co najmniej dwóch linii leczenia inhibitorami kinazy tyrozynowej (TKI) albo w przypadku protokołu EsPhALL2017 nieosiągnięcie całkowitej remisji (CR) po konsolidacji. Wskazaniem jest również nietolerancja lub przeciwwskazania do terapii TKI
Brak możliwości wykonania allo-HSCT	Możliwe przyczyny: choroby współistniejące, przeciwwskazania do leczenia kondycjonującego przed allo-HSCT, brak odpowiedniego dawcy (np. tylko dostępny dawca haploidentyczny przy wskazaniach jedynie do dawcy zgodnego według protokołu) lub wcześniejsze allo-HSCT
<b>Przeciwwskazania do włączenia</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Cięża lub karmienie piersią</li> <li>▪ Izolowana pozaszpikowa wznowa ALL</li> <li>▪ Zajęcie ośrodkowego układu nerwowego przez ALL (w momencie podania tisagenlecleucelu)</li> <li>▪ Aktywnie niekontrolowane zakażenie systemowe</li> <li>▪ Zakażenie HIV</li> <li>▪ Aktywne wirusowe zapalenie wątroby typu B lub C</li> <li>▪ Współistnienie wrodzonych chorób genetycznych przebiegających z upośledzoną czynnością szpiku (np. niedokrwistość Fanconiego, zespół Kostmanna, Shwachmana-Diamonda)</li> <li>▪ Przewlekła choroba przeszczep przeciw gospodarzowi (cGvHD) w stopniu II-IV</li> <li>▪ Obecność przeciwwskazań do stosowania chemioterapii limfodeplecyjnej (tj. fludarabina i cyklofosfamid lub cytarabina i etopozyd)</li> </ul>	

Skróty: ALL (*acute lymphoblastic leukaemia*) – ostra białaczka szpikowa; allo-HSCT (*allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*) – allogeniczna transplantacja macierzystych komórek krwiotwórczych.

z nawrotową postacią ostrej białaczki limfoblastycznej B-komórkowej [11]. Pacjent żyje już prawie 2 lata od infuzji, jest w znakomitym stanie klinicznym, wolny od białaczki.

Wieloletnią terapię rozpoczyna kwalifikacja pacjenta do leczenia zgodnie z Charakterystyką produktu leczniczego (ChPL) tisagenlecleucelu [12] i kryteriami refundacji według Programu Lekowego B.65. Leczenie finansowane w ramach Narodowego Funduszu Zdrowia nadzoruje Zespół Koordynacyjny ds. CAR-T, który wydaje aktualne zalecenia dotyczące terapii. Kwalifikacja powinna nastąpić jak najszybciej po spełnieniu przez dziecko wymaganych kryteriów. Aby móc zastosować terapię zgodnie z programem lekowym, konieczne jest spełnienie przez pacjenta dodatkowo kryteriów funkcjonalnych, na które składają się: prawidłowa funkcja nerek (stężenie kreatyniny w surowicy w zakresie normy wiekowej i/lub klirens kreatyniny > 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>),

wątroby [aktywność aminotransferazy alaninowej (ALAT) ≤ 5 × górnej granicy normy, stężenie bilirubiny < 2,0 mg/dl], serca (funkcja skurczowa lewej komory ≥ 28% lub frakcja wyrzutowa lewej komory ≥ 45%), stan sprawności (≥ 50 punktów w skali Lansky'ego dla pacjentów < 16 lat lub Karnofsky'ego u starszych) i przewidywany czas przeżycia co najmniej 12 tygodni od włączenia pacjenta do programu. Pacjenci ze wznową białaczki, szczególnie po przeszczepieniu macierzystych komórek krwiotwórczych, pozostają zazwyczaj w dobrym stanie klinicznym i aferzę należy wykonać tak szybko, jak jest to możliwe. Liczba blastów w szpiku kostnym jest bez znaczenia, natomiast w krwi obwodowej blastoza powinna być optymalnie nieobecna lub jak najmniejsza (możliwe jest jednak wykonanie procedury przy blastozie nawet do 50% i odpowiedniej liczbie limfocytów T w krwi obwodowej). Opóźnienie wykonania aferzy (również z powodu zbyt wczesnej poda-

**Tabela II.** Zalecany minimalny czas odstawienia wybranych procedur i leków przed wykonaniem leukaferazy  
**Table II.** Recommended minimum time to discontinue selected procedures and drugs prior to leukapheresis

Minimalny okres odstawienia przed leukaferazą	Procedury i leki
12 tygodni	<ul style="list-style-type: none"> <li>allogeniczny przeszczep macierzystych komórek krwiotwórczych</li> <li>fludarabina, bendamustyna</li> </ul>
8 tygodni	<ul style="list-style-type: none"> <li>radioterapia ośrodkowego układu nerwowego</li> <li>klofarabina</li> <li>leki silnie wpływające na limfocyty T [z wyjątkiem globuliny antytymocytarnej (ATG) i alemtuzumabu, dla których okres karencji wynosi &gt; 6 miesięcy]</li> </ul>
4 tygodnie	<ul style="list-style-type: none"> <li>infuzja limfocytów dawcy (DLI)</li> <li>PEG-L-asparaginaza</li> <li>transfuzja preparatów krwi, które nie były napromieniane</li> </ul>
2 tygodnie	<ul style="list-style-type: none"> <li>niskodawkowa chemioterapia podtrzymująca (np. metotreksat, 6-merkaptopuryna, winkrystyna)</li> <li>blinatumomab (w naszym ośrodku akceptowalny okres karencji jest skrócony do 7 dni)</li> <li>immunosupresja: cyklosporyna, takrolimus, inne chemioterapeutyki (np. metotreksat), mykofenolan mofetylu, rapamycyna, talidomid, leki biologiczne (etanercept, infliksymab, siltuksymab, tocilizumab)</li> <li>inhibitory kinazy tyrozynowej</li> <li>czynniki wzrostu granulocytów (G-CSF) o długotrwałym działaniu (np. pegfilgrastim)</li> </ul>
1 tydzień	<ul style="list-style-type: none"> <li>metotreksat ith.</li> <li>glikokortykosteroidy systemowe (zwłaszcza deksametazon; według niektórych autorów dopuszczalny do 72 godzin przed aferezą)</li> </ul>
5 dni	<ul style="list-style-type: none"> <li>G-CSF o krótkotrwałym działaniu (np. filgrastim)</li> <li>nilotinib</li> </ul>
72 godziny	<ul style="list-style-type: none"> <li>hydroksymocznik lub inne leki cytotoksyczne albo antyproliferacyjne o krótkotrwałym działaniu</li> </ul>
24 godziny	<ul style="list-style-type: none"> <li>cytarabina ith.</li> </ul>
Nie wymagają okresu karencji	<ul style="list-style-type: none"> <li>miejscowe i wziewne glikokortykosteroidy</li> <li>hydrokortyzon do 12 mg/m<sup>2</sup>/dzień u dzieci i do 40 mg/dzień u dorosłych</li> <li>transfuzje napromienianych preparatów krwiopochodnych</li> </ul>

Skrót: ith. (*intrathecal*) – dokanałowo.

zy chemioterapii) może się wiązać z pogorszeniem stanu ogólnego pacjenta, pojawieniem się infekcji, spadkiem liczby i pogorszeniem funkcji limfocytów CD3+ oraz innymi czynnikami, które mogą ograniczać możliwość przeprowadzenia skutecznej leukaferazy [13]. Czas potrzebny na przygotowanie komórek – od aferezy do podania pacjentowi gotowego leku – wynosi zazwyczaj ok. 3-4 tygodni.

Aby właściwie przeprowadzić aferezę, pacjent musi spełnić następujące kryteria hematologiczne: 1000 leukocytów/ $\mu$ l i minimum 100-150 (optymalnie 300) limfocytów T CD3+/ $\mu$ l w krwi obwodowej, przy braku hiperleukocytozy [14]. Ponadto konieczny jest dobry stan kliniczny chorego i prawidłowe parametry krzepnięcia. Separację przeprowadza się przez cewnik umieszczony w żyłę udowej. Według niektórych ośrodków minimalna waga pacjenta, która umożliwia przeprowadzenie procedury, to 8 kg. Przed przystąpieniem do aferezy należy uwzględnić

czas potrzebny na eliminację stosowanych wcześniej leków (tab. II).

Zebrane limfocyty T zamraża się w banku komórek krwiotwórczych. Materiał z aferezy można przechowywać i wykorzystywać do 30 miesięcy. W celu uruchomienia produkcji komórek CAR-T zamrożony aferezat przekazuje się do specjalistycznego laboratorium, gdzie komórki poddaje się manipulacji genetycznej *ex vivo*. Przy udziale wektora lentiwirusowego do genomu komórki wprowadza się gen kodujący chimeryczny receptor antygenowy (anty-CD19 w przypadku preparatu tisagenlecleucel) [13]. W ten sposób uzyskuje się zmodyfikowane limfocyty, które zostają zaprogramowane tak, by w celowany sposób, trwale i skutecznie eliminować komórki nowotworowe pacjenta. Tak przygotowane komórki CAR-T zamraża się ponownie i transportuje do apteki szpitalnej.

**Tabela III.** Zalecany minimalny czas odstawienia wybranych procedur i leków przed infuzją CAR-T  
**Table III.** Recommended minimum time to discontinue selected procedures and drugs prior to CAR-T infusion

Minimalny okres odstawienia przed infuzją CAR-T	Procedury i leki
8 tygodni	<ul style="list-style-type: none"> <li>radioterapia ośrodkowego układu nerwowego (OUN)</li> <li>przeciwciała przeciw limfocytom T (np. alemtuzumab)</li> </ul>
6 tygodni	<ul style="list-style-type: none"> <li>infuzja limfocytów dawcy (DLI)</li> </ul>
4 tygodnie	<ul style="list-style-type: none"> <li>immunosupresja: cyklosporyna, takrolimus, inne chemioterapeutyki (np. metotreksat), mykofenolan mofetylu, rapamycyna, talidomid, leki biologiczne (etanercept, infliksymab, siltuksymab, tocilizumab)</li> <li>rytuksymab</li> <li>PEG-L-asparaginaza</li> </ul>
2 tygodnie	<ul style="list-style-type: none"> <li>radioterapia poza OUN</li> <li>kłofarabina, cytarabina (<math>\geq 100 \text{ mg/m}^2</math>), antracykliny, cyklofosfamid, metotreksat (<math>\geq 25 \text{ mg/m}^2</math>)</li> </ul>
10 dni	<ul style="list-style-type: none"> <li>czynniki wzrostu granulocytów (G-CSF) o długotrwałym działaniu (np. pegfilgrastim)</li> </ul>
7 dni	<ul style="list-style-type: none"> <li>metotreksat ith.</li> <li>winkrystyna, 6-merkaptopuryna, 6-tioguanina, cytarabina (<math>&lt; 100 \text{ mg/m}^2</math>), asparaginaza natywna lub kryzantaspaza (Erwiniase), metotreksat (<math>&lt; 25 \text{ mg/m}^2</math>)</li> </ul>
72 godziny	<ul style="list-style-type: none"> <li>hydroksymocznik lub inne leki cytotoksyczne albo antyproliferacyjne o krótkotrwałym działaniu</li> <li>inhibitory kinazy tyrozynowej</li> <li>glikokortykosteroidy <math>&gt; 12 \text{ mg/m}^2/\text{dzień}</math> u dzieci i do <math>40 \text{ mg/dzień}</math> u dorosłych w przeliczeniu na hydrokortyzon</li> </ul>

Skrót: ith. (*intrathecal*) – dokanałowo.

Kolejnym zadaniem, po przeprowadzonej skutecznej leukaferizie, pozostaje utrzymanie dziecka w zadowalającym stanie klinicznym w trakcie oczekiwania na przygotowanie preparatu. W tym celu stosuje się chemioterapię pomostową, dostosowaną zarówno do stanu ogólnego pacjenta, jak i agresywności białaczki oraz przebiegu jej dotychczasowego leczenia (toksyczność, reakcje nadwrażliwości, zastosowanie antracyklin) [14]. Leczenie pomostowe należy skonsultować z ośrodkiem, w którym przeprowadza się terapię CAR-T. Należy pamiętać, że podobnie jak przed aferezą, poszczególne leki różnią się czasem wypłukiwania i konieczne jest ich odstawienie odpowiednio wcześniej przed infuzją preparatu (tab. III). Zazwyczaj stosuje się schematy chemioterapii o średniej intensywności – często są one złożone z leków stosowanych w fazie indukcji leczenia. W podtrzymaniu remisji hematologicznej skuteczna wydaje się winkrystyna. W celu zapobiegania nawrotom i progresji w ośrodkowym układzie nerwowym należy włączyć również terapię dokanałową.

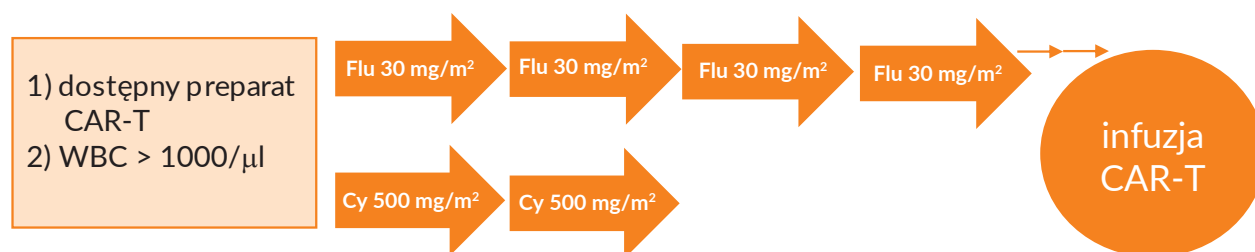
Dyskusyjne jest stosowanie w terapii pomostowej immunoterapii – inotuzumabu ozogamycyny i blinatumomabu. Wybór tych leków może zmniejszyć ryzyko toksyczności i okazać się skutecznym w chorobie odpornej na dotychczas zastosowane standardowe chemioterapeutyki [15, 16]. Trzeba mieć jednak na uwadze, że przy zastosowaniu blinatumomabu

istnieje ryzyko selekcji blastów bez ekspresji antygeny CD19 [17, 18], a w wypadku inotuzumabu ozogamycyny aplazja limfocytów B może spowodować zmniejszoną ekspansję komórek CAR-T [19].

Odejście od bardzo intensywnego leczenia umożliwia skrócenie okresów ciężkiej neutropenii, co zmniejsza ryzyko poważnych infekcji. Założeniem chemioterapii pomostowej jest przede wszystkim uniknięcie szybkiej progresji białaczki i obniżenie poziomu minimalnej choroby resztkowej. Ten ostatni aspekt jest kluczowy w kontekście najczęstszego obserwowanego po wlewie komórek powikłania – zespołu uwalniania cytokin (*cytokine release syndrome* – CRS), który w najcięższej postaci może przyjąć obraz zagrażającej życiu niewydolności narządowej [14, 20].

Pacjenta przyjmuje się na oddział przeszczepowy ok. 10 dni przed infuzją komórek CAR-T. Bezpośrednio przed podaniem należy oznaczyć białka ostrej fazy [białko C-reaktywne (*C-reactive protein* – CRP), ferrytynę] i parametry krzepnięcia krwi oraz ocenić funkcję nerek i wątroby. Wymagana jest również ocena cytologiczna i cytometryczna szpiku kostnego wraz z potwierdzeniem obecności antygeny CD19 na blastach (badanie można pominąć, jeśli od wykonania biopsji aspiracyjnej szpiku przy kwalifikacji do programu upłynęło mniej niż 3 tygodnie i wcześniej potwierdzono obecność CD19 na blastach

## CHEMIOTERAPIA LIMFODEPLECYJNA



**Ryc. 3.** Schemat terapii limfodeplecyjnej. FLU – fluarabina; Cy – cyklofosfamid; CAR-T – limfocyty T z chimerycznym receptorem antygenowym; WBC – leukocyty

**Fig. 3.** Lymphodepleting chemotherapy regimen. FLU – fluarabine; Cy – cyklofosfamide; CAR-T – chimeric antigen receptor T cells; WBC – leukocytes count

białaczkowych, np. w badaniu cytometrycznym minimalnej choroby resztkowej).

Na tydzień przed infuzją (od doby –7. do doby –4. lub od doby –6. do doby –3.) przeprowadza się chemioterapię limfodeplecyjną. Należy ją rozpocząć dopiero po potwierdzeniu dostępności gotowego preparatu tisagenlecleucel. Jej zalecany schemat to fludarabina (30 mg/m<sup>2</sup>/dzień w dobach od –7. do –4.) w połączeniu z cyklofosfamidem (500 mg/m<sup>2</sup>/dzień w dobach –7. i –6.) (ryc. 3) [13].

Najlepsze wyniki leczenia (oceniane jako całkowita remisja po roku od podania komórek CAR-T) obserwuje się u dzieci z niewykrywalną lub niską (< 5%) chorobą resztkową przed zastosowaniem limfodeplecji [16, 21].

Pacjenci, którzy są kwalifikowani do terapii, z zasady cechują się znaczącym upośledzeniem odporności. Dodatkowo sama terapia limfodeplecyjna wpływa na funkcjonowanie limfocytów T, a podanie komórek CAR-T wiąże się z aplazją limfocytów B, a co za tym idzie – hipogammaglobulinemią. Z tego powodu u każdego dziecka zaleca się profilaktykę przeciwgrzybiczą (flukonazol, mikafungina lub pozakonazol u pacjentów obciążonych większym ryzykiem rozwoju inwazyjnych grzybic) i przeciwwirusową (acyklowir). Jako profilaktykę zakażenia *Pneumocystis jirovecii* pacjenci przyjmują kotrimoksazol. Rutynowo nie stosuje się profilaktyki zakażeń bakteryjnych [20, 22].

Przed podaniem preparatu CAR-T zaleca się premedykację dziecka paracetamolem i lekiem przeciwhistaminowym. Nie należy stosować kortykosteroidów bez wyraźnej konieczności (jedynie ze wskazań życiowych) [14]. Tisagenlecleucel charakteryzuje się niewielką objętością, zatem ilość zawarte-

go w nim dimetylosulfotlenku (DMSO) bardzo rzadko powoduje skutki uboczne. W naszym ośrodku nie obserwowano dotychczas żadnego przypadku reakcji niepożądanego w trakcie podażu preparatu.

Najczęściej występującym powikłaniem po zastosowaniu terapii CAR-T jest zespół uwalniania cytokin. W wieloośrodkowym badaniu ELIANA [8] mediana czasu do jego wystąpienia wynosiła 3 dni (zakres 1-22 dni). W naszym ośrodku we wszystkich obserwowanych przypadkach jego początek notowano przed 7. dniem od infuzji. W diagnostyce różnicowej CRS zawsze należy wziąć pod uwagę zakażenie, w tym posocznicę. Jeżeli zostanie rozpoznane to powikłanie, postępowanie powinny dyktować przede wszystkim stan kliniczny dziecka i algorytm przedstawiony w ChPL tisagenlecleucelu. Tocilizumab [przeciwciało przeciwko receptorowi dla ludzkiej interleukiny-6 (IL-6)] stosuje się w CRS o nasileniu umiarkowanym i ciężkim. W okresie zwiększonego ryzyka lub rozwinięcia się tego powikłania przeciwskazane jest podawanie czynnika wzrostu granulocytów [14].

Drugą wśród najczęstszych powikłań związanych z leczeniem CAR-T jest neurotoksyczność (*immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome* – ICANS). Z tego powodu wymagana jest systematyczna kontrola stanu neurologicznego dziecka. Jednym z prostych i czułych markerów rozwijających się zaburzeń neurologicznych jest zmiana charakteru pisma. Test pisma można stosować u starszych dzieci w codziennej obserwacji klinicznej. U każdego pacjenta wskazane jest profilaktyczne podawanie lewetiracetamu (10 mg/kg co 12 godzin) od doby –1. do doby +15. (według niektórych autorów do doby +30.) lub dłużej w przypadku zwiększonego ryzyka

drgawek lub obserwowanych powikłań neurologicznych [20].

W trakcie obserwacji pacjenta ważne jest również monitorowanie parametrów krzepnięcia krwi. Szczególną uwagę należy zwrócić na ryzyko hipofibrynogenemii i w razie potrzeby szybko wyrównywać to zaburzenie.

Po trwającej 2-3 tygodnie obserwacji można rozważyć wypis pacjenta ze szpitala. Aby było to możliwe, dziecko musi pozostawać w dobrym stanie ogólnym, być stabilne hematologicznie, bez cech infekcji. Należy zaplanować dalsze kontrole w warunkach ambulatoryjnych. Pacjent na wczesnym etapie, z powodu utrzymującego się ryzyka rozwinięcia ostrych toksyczności, powinien pozostawać w bliskości ośrodka dysponującego oddziałem intensywnej terapii dziecięcej.

Pierwszą kontrolną punkcję szpiku z oceną MRD przeprowadza się w +28. dobie po podaniu preparatu. Kolejne należy zaplanować na 3., 6. i 12. miesiąc po infuzji.

Cytopenie we wszystkich trzech liniach są częstym zjawiskiem po terapii CAR-T. W większości przypadków w dłuższym okresie pacjenci nie wymagają transfuzji preparatów krwinek czerwonych i płytek krwi, chociaż utrzymująca się neutropenia może wymagać okresowej podaży czynnika stymulującego

tworzenie kolonii granulocytów (*granulocyte colony-stimulating factor* – G-CSF). Występująca u każdego pacjenta aplazja limfocytów B i związana z nią hipogammaglobulinemia powoduje konieczność jej okresowego uzupełniania preparatami immunoglobuliny G (IgG) [14, 20]. Najchętniej używane są w tym celu immunoglobuliny podskórne wspomagane hialuronidazą (*high-dose recombinant human hyaluronidase-facilitated subcutaneous immune globulins* – fSCIg), ze względu na to, że nie wymagają one dodatkowej premedykacji i zapewniają dłuższą utrzymującą się, zabezpieczającą poziom IgG w osoczu [23].

Należy pamiętać, że przeciwwskazane jest stosowanie glikokortykosteroidów o działaniu ogólnoustrojowym ze względu na ryzyko negatywnego wpływu na ekspansję i żywotność komórek CAR-T. Użycie glikokortykosteroidów należy rozważać jedynie w sytuacji zagrożenia życia dziecka [14].

Jednym z największych problemów, z jakimi trzeba się mierzyć po terapii CAR-T, jest możliwość utraty ekspresji antygenu CD19 na komórkach białaczkowych i wznowy CD19-ujemnej. Odpowiedzią na to zjawisko są próby stworzenia bispecyficznych komórek CAR-T, skierowanych na antygeny CD19 i CD22 [24]. Być może w przyszłości będzie możliwe stworzenie uniwersalnych allogenicznych komórek CAR-T i CAR-NK [25, 26].

## PIŚMIENNICTWO

1. Styczyński J.: Where dreams come true: CAR-T cell therapy in Poland! *Acta Haematologica Polonica* 2020; 51 (1): 1.
2. Lingala S.M., Ghany M.G.M. Mhs.: Cancer immunotherapy using CAR-T cells: from the research bench to the assembly line. *Biotechnol J* 2016; 25 (3): 289-313.
3. Styczyński J.: A brief history of CAR-T cells: From laboratory to the bedside. *Acta Haematologica Polonica* 2020; 51 (1): 2-5.
4. Heiblig M., Elhamri M., Michallet M. i wsp.: Adoptive immunotherapy for acute leukemia: New insights in chimeric antigen receptors. *World J Stem Cells* [Internet] 2015; 7 (7): 1022-1038. doi:10.4252/wjsc.v7i7.1022.
5. Eshhar Z., Waks T., Gross G. i wsp.: Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the  $\gamma$  or  $\zeta$  subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1993; 90 (2): 720-724.
6. Pehlivan K.C., Duncan B.B., Lee D.W.: CAR-T cell therapy for acute lymphoblastic leukemia: transforming the treatment of relapsed and refractory disease. *Current Hematologic Malignancy Reports* 2018; 13 (5): 396-406.
7. Rosenbaum L.: Tragedy, perseverance, and chance – the story of CAR-T therapy. *Yearbook of Paediatric Endocrinology* 2018; 2017-2019.
8. Maude S.L., Laetsch T.W., Buechner J. i wsp.: Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2018; 378 (5): 439-448.
9. Grupp S.A., Maude S.L., Rives S. i wsp.: Tisagenlecleucel for the treatment of pediatric and young adult patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia: updated analysis of the ELIANA clinical trial. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* [Internet] 2019; 25 (3): S126-S127. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2018.12.410>.
10. Pasquini M.C., Hu Z.H., Curran K. i wsp.: Real-world evidence of tisagenlecleucel for pediatric acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphoma. *Blood Adv* 2020; 4 (21): 5414-5424.
11. Marschollek P., Liszka K., Gorczyńska E. i wsp.: A dream that came true: Poland's first successful CAR-T cell therapy in child with refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Acta Haematol Pol* 2021; 52(3): 211-213.
12. Korell F., Laier S., Sauer S. i wsp.: Current challenges in providing good leukapheresis products for manufacturing of CAR-T cells for patients with relapsed/refractory NHL or ALL. *Cells* 2020; 9 (5): 1225.
13. Charakterystyka produktu leczniczego Kymriah. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kymriah-epar-product-information\\_pl.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kymriah-epar-product-information_pl.pdf) [data dostępu: 19.01.2022].
14. Yakoub-Agha I., Chabannon C., Bader P. i wsp.: Management of adults and children undergoing chimeric antigen

- receptor T-cell therapy: Best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE). *Haematologica* 2020; 105 (2): 297-316.
15. Locatelli F., Zugmaier G., Rizzari C. i wsp.: Effect of blinatumomab vs chemotherapy on event-free survival among children with high-risk first-relapse B-cell acute lymphoblastic leukemia: a randomized clinical trial. *JAMA* [Internet] 2021; 325 (9): 843-854. doi: <https://doi.org/10.1001/jama.2021.0987>.
  16. Myers R.M., Taraseviciute A., Steinberg S.M. i wsp.: Blinatumomab nonresponse and high-disease burden are associated with inferior outcomes after CD19-CAR for B-ALL. *Am J Clin Oncol* 2021; JCO2101405. doi: 10.1200/JCO.21.01405.
  17. Ruela M., Maus M.V.: Catch me if you can: Leukemia escape after CD19-directed T cell immunotherapies. *Comput Struct Biotechnol J* [Internet] 2016; 14: 357-362. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.csbj.2016.09.003>.
  18. Pillai V., Muralidharan K., Meng W. i wsp.: CAR T-cell therapy is effective for CD19-dim B-lymphoblastic leukemia but is impacted by prior blinatumomab therapy. *Blood Adv* 2019; 3 (22): 3539-3549.
  19. Mueller K.T., Maude S.L., Porter D.L. i wsp.: Cellular kinetics of CTL019 in relapsed/refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia and chronic lymphocytic leukemia. *Blood* [Internet] 2017; 130(21): 2317-2325. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2017-06-786129>.
  20. Gil L., Łojko-Dankowska A., Matuszak M. i wsp.: CAR-T cell therapy – toxicity and its management. *Acta Haematol Pol* 2020; 51 (1): 6-10.
  21. Schultz L.M., Baggott C., Prabhu S. i wsp.: Disease burden impacts outcomes in pediatric and young adult B-cell acute lymphoblastic leukemia after commercial tisagenlecleucel: results from the Pediatric Real World CAR Consortium (PRWCC). *Blood* 2020; 136 (supl. 1): 14-15. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2020-134472>.
  22. Styczyński J.: Infections following CAR-T cells therapy: current state-of-the-art review and recommendations. *Acta Haematol Pol* 2020; 51 (1): 11-16.
  23. Wasserman R.L., Melamed I., Kobrynski L. i wsp.: Recombinant human hyaluronidase facilitated subcutaneous immunoglobulin treatment in pediatric patients with primary immunodeficiencies: long-term efficacy, safety and tolerability. *Immunotherapy* [Internet] 2016; 8 (10): 1175-1186. doi: <https://doi.org/10.2217/imt-2016-0066>.
  24. Dai H., Wu Z., Jia H. i wsp.: Bispecific chimeric antigen receptor targeting both CD19 and CD22 T cell therapy in adults with relapsed or refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia. *SSRN Electronic Journal* 2020; 8: 1-10.
  25. Depil S., Duchateau P., Grupp S.A. i wsp.: 'Off-the-shelf' allogeneic CAR T cells: development and challenges. *Nat Rev Drug Discov* [Internet] 2020; 19 (3): 185-199. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/s41573-019-0051-2>.
  26. Morgan M.A., Büning H., Sauer M. i wsp.: Use of cell and genome modification technologies to generate improved "off-the-shelf" CAR T and CAR NK cells. *Front Immunol* 2020; 11: 1-15.

#### Adres do korespondencji:

**Prof. dr hab. n. med. KRZYSZTOF KAŁWAK**

Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu  
ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław  
e-mail: [krzysztof.kalwak@gmail.com](mailto:krzysztof.kalwak@gmail.com)

**Konflikt interesów:** Autorzy deklarują brak konfliktu interesów w związku z powyższą publikacją.

**Źródła finansowania:** Finansowanie nie było konieczne do opracowania niniejszych rekomendacji.