

BEENMURG-OORPLANTING BY GEVALLE MET BEENMURG-ONDERDRUKKING*

APLASTIESE ANEMIE EN NA STIKSTOFMOSTERDTERAPIE

T. HEYL, *Departement Interne Geneeskunde, Universiteit van Stellenbosch en Karl Bremer-hospitaal*

Dit is algemeen bekend dat bestralingsongelukke mag lei tot onderdrukking van hemopoïese met die ontwikkeling van 'n aplastiese anemie en die daarmee gepaardgaande komplikasies van septisemie en bloedingsneigings en die uiteindelijke afsterwing van die individu. Verskeie werkers^{1,2} het bewys dat proefdiere teen hierdie opeenvolging van gebeurlikhede beskerm kan word deur middel van beenmurg-oorplanting. Die vitale bloedvormende elemente word intraveneus toegedien en veroorsaak herbevolking van die beenmurg met herstel van funksie.^{3,4}

Die sukses met diere-proefnemings het gelei tot eksperimentele werk op mense,⁵⁻⁷ en bemoedigende resultate is verkry. Dit het egter geblyk dat beenmurg van homoloë skenkers nie altyd bevredigende resultate lewer nie weens immunologiese reaksies, en daarom word fetale hemopoïetiese weefsel aanbeveel.⁸ Laasgenoemde is egter moeilik te verkry, en dit is ook nog nie seker op watter stadium sodanige weefsel antigeniese eienskappe ontwikkel nie.

'n Moontlike praktiese toepassing van hierdie prosedure lê by idiopatiese aplastiese anemie.

'n Ander logiese stap wat volg uit hierdie werk, is om outoloë beenmurg van die pasiënt self te neem en tydelik te stoor, terwyl terapeutiese prosedures in die vorm van massiewe dosisse ioniserende bestraling toegepas word, of desnoods die toediening van massiewe dosisse van 'n sitostatiese middel in sentra waar bestraling nie moontlik is nie. Na afhandeling van dié prosedure word die pasiënt se eie beenmurg dan weer aan hom teruggegee. Dit is egter 'n drastiese prosedure wat slegs as 'n wanhoopsmaatreël toegepas kan word op pasiënte by wie die diagnose geensins betwyfel word nie, die prognose hopeloos is, en waar die siekteverloop duidelik in sy laaste stadia is.

Die geleentheid het hom voorgedoen om beide hierdie gebruike van beenmurg-oorplanting na te gaan, naamlik in een geval van idiopatiese aplastiese anemie en in vyf gevalle van wydverspreide maligniteit.

VOORBEREIDING VAN BEENMURG

Vir die aspirasie van die beenmurg is Sahla sternaal-punksie-naalde gebruik. Na verkryging is die beenmurg of die fyn-gesnipperde fetale hemopoïetiese weefsel gestuur deur 'n 6-tal filters van vlekvrue staalgaas. Hierdie filters is volgens grootte van die maas opeenvolgens gerangskik in 'n silinder van vlekvrue staal. Hulle is van mekaar geskei deur staalringe wat mikrometries presies binne die groter uitwendige silinder gepas het. Die bo- en onderreindes van die silinder is gesluit met skroefkoppe wat openinge gehad het vir 'n vroulike en manlike

Luer-aansluiting, respektiewelik. Die filters het 'n maas gehad van 1,360, 630, 307, 201, 140 en 43 μ , respektiewelik. Elke filter is slegs een maal gebruik. Die apparaat is voor gebruik gesteriliseer in 'n outoklaaf.

Die beenmurg of hemopoïetiese selle is gesuspendeer in een van 3 oplossings, nl.: (1) A.C.D.-oplossing ('acid citrate dextrose'), wat algemeen gebruik word vir bloedtransfusie-doeleindes, of (2) Hank se gebalanseerde soutoplossing, of (3) 'n weefsel-kweekbodem, nl. T.C. 199.

BEENMURG-OORPLANTINGS BY APLASTIESE ANEMIE

K.M., 'n Kleurlingmeisie van 19 jaar, is toegelaat met die klagtes van kortasemheid met inspanning en krampagtige pyn in die borskas vir 2 maande. By ondersoek was sy baie erg anemies met bloedings en eksudate in die fundi oculi. Afgesien van 'n sistoliese geruis oor die hart, kon geen ander afwykings gevind word nie,

Bloedtelling: Hemoglobien 3.3 G. per 100 ml., hematokriet 9%, rooiselstelling 950,000/k. mm., en W.B.S.T. 2,350/k. mm. (P. 6%, L. 94%).

Beenmurgondersoeke (2 geleenthede): Aplasie van sowel rooi- as witselreëls en plaatjies.

Crista iliaca biopsie: Volledige aplasie van die beenmurg.

Bloedgroep: AA1, b Cc D Ee M N P Fy (Kell negatief).

Behandeling het bestaan uit die toediening van steroïede in die vorm van 'medicortin', 10 mg. *q.i.d.*, terwyl yster en vit. B₁₂ ook toegedien is. Penisillien is profylakties gebruik vir infeksie en die pasiënt is so ver moontlik geïsoleer. Dit het geen verbetering meegebring nie, en daar is besluit om beenmurg-oorplantings te probeer.

Autoloë beenmurg, d.w.s. van die pasiënt self, was natuurlik uit die aard van die saak onmoontlik; gevolglik is gesoek na 'n skenker met 'n bloedgroep so na as moontlik aan dié van die pasiënt. Met die hulp van die Departement Ginekologie en Verloskunde is 'n skenker verkry wie se bloedgroep slegs in een opsig verskil het—sy was naamlik Kell positief. Ons sou dus op twee maniere kon bepaal of die transplantaat van waarde was, nl.: (1) deur die bloedtelling op te volg, en (2) deur die Kell-groep op te volg.

Deur middel van veelvuldige punksies van albei cristae iliaca onder plaaslike narkose is die beenmurg verkry, gesuspendeer in A.C.D.-oplossing en daarna intraveneus toegedien aan die pasiënt deur middel van 'n bloedtransfusie-filter. Die totale aantal gekernde selle verkry en toegedien was 1.7×10^9 .

Hierdie transfusie van homoloë beenmurg het hoegenaamd geen verskil gemaak aan die bloedbeeld van die pasiënt nie en bloedtransfusies moes kort-kort toegedien word.

* Lesing gelewer tydens die Vierde Jaardag van die Mediese Skool van die Universiteit van Stellenbosch en die Karl Bremer-hospitaal, Bellville, Kp., op 8-9 September 1960.

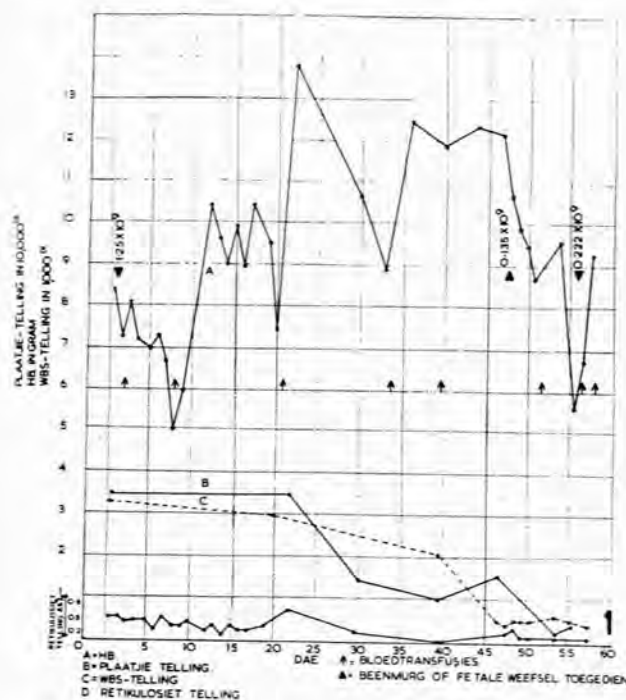
Vervolgens is oorplantings van fetale hemopoïetiese weefsel probeer in die hoop dat dit sou slaag. Fetusse van jonger as 24 weke is op twee geleenthede verkry deur bemiddeling van die Departement Verloenskunde en Ginekologie.

TEGNIK VAN OORPLANTING

Onder aseptiese omstandighede in die teater is die lever van die fetus verwyder, fyn gesnipper, gesuspender in 'n gebalanseerde soutoplossing (T.C. 199), en daarna deur 'n reeks filters van staalgaas met 'n steeds kleiner wordende maas gestuur. Hierna is die suspensie afgeswaai teen 1,000 o.p.m. en die boonste vetlagie verwyder. Die selle is gehersuspendeer en daarna toegedien deur middel van 'n gewone bloedtransfusiefilter.

Die eerste fetus het 0.22×10^9 gekernde selle opgelewer en die tweede fetus 0.135×10^9 gekernde selle wat gesuspender is in A.C.D.-oplossing.

Ook geneen van hierdie twee transfusies het enige verskil gemaak nie (Afb. 1) en die pasiënt is oorlede met die beeld van



Afb. 1. Beenmurg-oorplanting is gemerk met 'n donker driehoek. Die kunsmatige instandhouding van die hemoglobienwaardes deur bloedtransfusie (\uparrow), sowel as die gestadige daling in die leukosiet- en plaatjietellings, word aangetoon. Geen retikulosis-respons word waargeneem nie.

totale aplasie van die beenmurg en erge bloedingsneiging met 'n algemene septisemie.

Kommentaar

Beenmurg-oorplanting in aplasiese anemie is nog maar selde as 'n terapeutiese maatreeël op die proef gestel.^{9,10} Die resultate by daardie geleenthede was nie baie bemoedigend nie. Sowel beenmurg-oorplanting as die transfusie van fetale hemopoïetiese weefsel was ook onsuksesvol in ons pasiënt en het geen remissie veroorsaak nie.

BEENMURG-OORPLANTING NA STIKSTOFMOSTERD-TERAPIE

Dié behandeling is alleenlik toegepas op pasiënte met ver gevorderde, bewese karsinoom en 'n hopelose prognose.

Die gevalle was dan as volg:

Geval 1. A.F., 'n 60-jarige manlike pasiënt, met karsinoom van die regterlong en uitsaaings na hilusklere en die lever.

Geval 2. J.H., 'n 42-jarige manlike pasiënt, met karsinoom van die bronkus, uitsaaings na hilusklere, en 'n superior vena cava-sindroom.

Geval 3. E.V.W., 'n 16-jarige dogter, met verspreide anaplastiese sarkoom van limfotiese weefsel met groot massas in die regterbors en servikale kliere, terwyl massiewe edeem van die regterbeen aanwesig was en toegeskryf is aan moontlike drukking van kliere op die vena iliaca en/of 'n diep veneuse trombose.

Geval 4. H.O., 'n 62-jarige man, met karsinoom van die regterhoofbronkus en verspreiding na servikale en mediastinale kliere en die lever.

Geval 5. B.C., 'n 29-jarige vrou, met karsinoom van die long en uitsaaings na pleura, mediastinale en servikale kliere, asook moontlik na die lever.

Tegniek van Oorplanting

Na premedikasie met 15 mg. morfiën of 100 mg. petidien, is beenmurg verkry deur middel van veelvuldige punksies van beide cristaë iliacaë onder plaaslike narkose. Hiervan is 40 ml. bevries na suspensie in Hanks se gebalanseerde soutoplossing waarby gliserol en albumien gevoeg is, tot 'n finale konsentrasie van 15% en 5% respektiewelik. Bevriesing het stadig geskied deur middel van 'n gemodifiseerde Polgetegniek,¹¹ en daarna is die beenmurg bewaar by -80°C . tot dit benodig was. Opwarming het vinnig geskied in 'n waterbad by 37°C . met die toevoeging van 35% dekstrose in water en van normale soutoplossing na gegewe tydperke. Die res van die beenmurg is geplaas in A.C.D.-oplossing, deur bogenoemde staalfilters gefiltreer, en 4 uur na toediening van stikstofmosterd intraveneus aan die pasiënt toegedien deur middel van 'n bloedtransfusiefilter.

Die keuse van sitostatiese middel het op stikstofmosterd geval omdat dit 'n radiomimetiese stof is met 'n soortgelyke uitwerking as dié van ioniserende bestraling. Daarby is ook die gemak in aanmerking geneem waarmee dit toegedien kan word, nl. as een enkele intraveneuse dosis. Stikstofmosterd word gou gefikseer in die weefsels. Skynbaar vind dit binne 15 minute plaas in die selle, terwyl daar definitief na 2 uur geen verdere effek meer plaasvind nie. Dit was 'n belangrike oorweging omdat beenmurg in A.C.D.-oplossing hoogstens 8 uur hou waarna die lewensvatbaarheid van die selle begin afneem.

Die stikstofmosterd is toegedien in 'n dosis van 1 mg. per kg. liggaamsgewig.

Die volgende effekte is waargeneem:

Naarheid en braking het voorgekom by 4 uit 5 gevalle, maar was nie besonder lastig nie. (Die pasiënte is vooraf goed gekalmeer met 'n barbituraat en chlorpromasien).

Verhoogde speekselvloei en brongiale sekresies was opvallend by al 5 gevalle en het in 2 gevalle so lank geduur as 3 dae na die toediening van die stikstofmosterd.

Flebitis van die are waardeur die stikstofmosterd toegedien is, het voorgekom by alle gevalle, ongeag die gebruik al dan nie van 'n intraveneuse kanule.

'n Krampagtige retrosternale pyn is ondervind deur geval 2. Dit het gebeur net na toediening van die stikstofmosterd en het slegs 'n paar oomblikke geduur.

Al 5 gevalle het subjektief heelwat beter gevoel na die

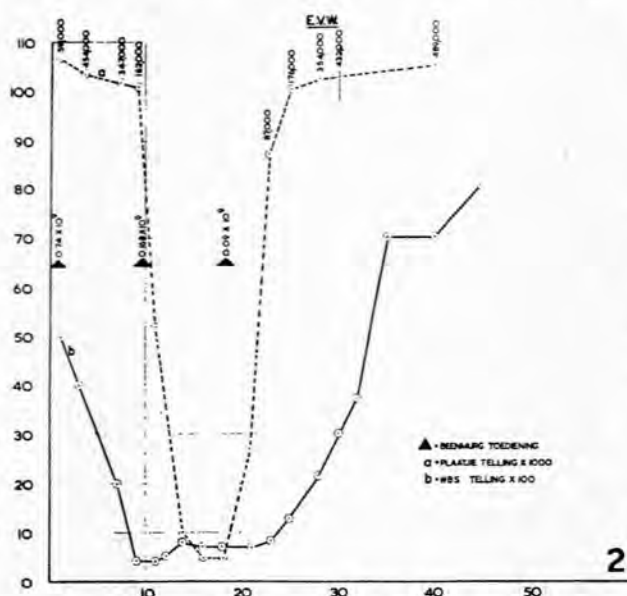
onmiddellike newe-effekte verdwyn het, en pyn is by almal verlig. Dit was opvallend in geval 5 (B.C.), wat voortdurend morfien of petidien moes kry voor die toediening van stikstofmosterd, maar daarna 2 weke lank sonder enige pynstillende middels kon klaarkom.

Geval 2 is skielik oorlede aan 'n verdagte long-embolus 7 dae na toediening van die stikstofmosterd. By postmortem ondersoek kon egter geen bewys van longembolisme gevind word nie.

Die ander 4 gevalle het almal 'n aplastiese anemie ontwikkel, soos verwag is. Purpura het verskyn en gevarieer van enkele vlekies, by een geval, tot groot bloedings in ander gevalle. Hemorragiese bullae in die mond is waargeneem by 3 uit die 4 gevalle.

Kommentaar

Oor die algemeen het die witseltelling geneig om vroeg te begin daal, en 'n laagtepunt is bereik tussen die 7e en 15e dag, soos in Afb. 2 uitgebeeld word. Op dié stadium kon slegs



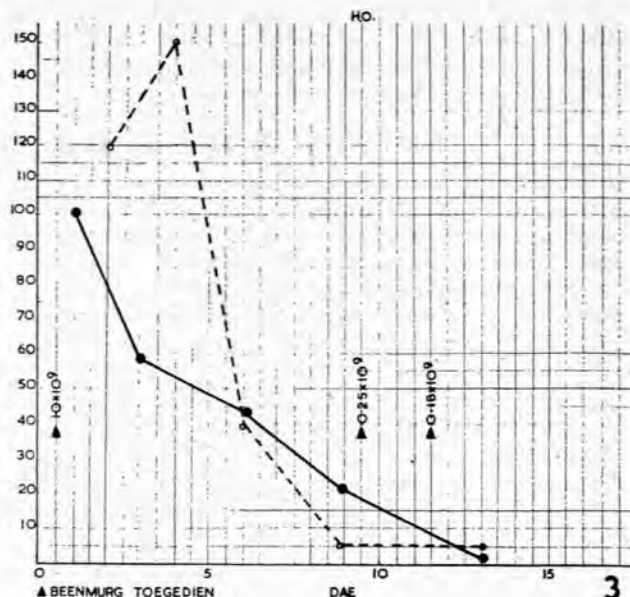
Afb. 2. Siekteverloop van pasiënt E.V.W. na toediening van 1 mg. stikstofmosterd/kg. liggaamsgewig. Die witbloedseltelling daal eerste en herstel laaste, terwyl die plaatjies later verminder maar gouer weer herstel.

limfosiete in die perifere bloed waargeneem word. Die plaatjietelling het later gedaal as die witseltelling en ook gouer bewys getoon van herstellende funksie.

Die daling in plaatjietelling het ooreengestem met die verskyning van purpura. Twee van die 5 gevalle is oorlede in dié stadium aan 'n beeld wat baie aan 'n serebrovaskulêre ongeluk herinner. Verlof tot obduksie is in een geval verkry en het veelvuldige petechiae deur die brein aangetoon.

Daar was ook die indruk dat 'n lae aanvanklike plaatjietelling en 'n vroeë vermindering van die plaatjies 'n swak prognose aangedui het (Afb. 3).

In geen geval het mens die indruk gekry dat die stikstofmosterd enige gunstige uitwerking gehad het op die verloop van die maligne proses nie. Geval 3 (E.V.W.) is oorlede 6



Afb. 3. Die plaatjietelling ten tye van toediening van stikstofmosterd is laag ($100,000/\text{mm}^3$) en daal vroeg (3e dag). Die leukosiet-telling daal later (6e dag). Die pasiënt is oorlede op die 13e dag.

weke nadat die perifere bloedbeeld min of meer normaal geword het. By obduksie is bevind dat die hemopoietiese beenmurg nog slegs in kollerige areas herstel was.

Geval 5 (B.C.) is oorlede ongeveer 2 maande na toediening van die stikstofmosterd, nadat haar beenmurg reeds volkome herstel het. Ook haar kliniese beeld is nie werklik gunstig beïnvloed deur die stikstofmosterd nie. Na aanvanklike verbetering het sy vinnig agteruitgegaan en voortdurend las gehad van erge pyn. Tasbare kliere het in hierdie tydperk baie vinnig vergroot.

Hoewel opgelet is vir bewyse van skade aan die maagdermkanal, kon geen kliniese of postmortem bewys van skadelike effekte van die stikstofmosterd op hierdie orgaan waargeneem word nie.

GEVOLGTREKKINGS

1. Stikstofmosterd in die dosering van 1 mg./kg. liggaamsgewig bied geen beter kans op genesing van karsinoom van die long, brongus, of limfoïede weefsels as die gewone dosering van 0.4 mg./kg. nie, en het bloot 'n palliatiewe effek in soverre dit pyn vir korter of langer periodes verlig.

2. Volgens hierdie reeks skyn die hematologiese effekte van stikstofmosterd 'n konstante patroon te volg, nl. eers 'n daling in die witseltelling, wat dan 'n laagtepunt bereik tussen die sewende en vyftiende dag, gevolg deur 'n daling in die plaatjietelling. Waardes onder $100,000$ is bereik en gehandhaaf tussen die elfde en een-en-twintigste dag. 'n Styging in plaatjietelling is die vroegste aanduiding van herstellende beenmurgfunksie, terwyl die indruk geskep word dat 'n aanvanklik lae plaatjietelling met 'n vroeë vinnige vermindering van die plaatjies 'n swak prognose aandui.

3. Uit die beperkte reeks gevalle blyk dit dat massiewe dosisse stikstofmosterd, gevolg deur beenmurg-oorplantings, nie sonder gevaar is nie, en die prosedure kan nie beskou word as 'n lonende terapeutiese maatreef nie.

SUMMARY

A description is given of our experiences with bone-marrow transplantation. In a patient with idiopathic aplastic anaemia no beneficial effects of transplantation, either with homologous bone marrow or foetal liver tissue, could be demonstrated.

Five patients with advanced, disseminated, malignant disease were treated with massive doses of nitrogen mustard (1 mg. per kg. body weight) and subsequent transfusion of autologous bone marrow. This bone marrow was obtained before administration of the nitrogen mustard and divided into two unequal parts, the greater part of which was suspended in ACD solution and administered 4 hours after the nitrogen-mustard therapy, while the rest was stored in Hank's solution with 15% glycerol at -80°C . and re-injected at the time of maximal depression of the bone marrow.

Results with this form of therapy proved disappointing.

Dank aan Dr. R. L. M. Kotzé, Mediese Superintendent van die

Karl Bremer-hospitaal, vir verlof om te publiseer en aan prof. A. J. Brink vir aanmoediging en waardevolle wenke. Die hulp van prof. J. N. de Villiers en die Departement van Verloskunde en Ginekologie, sowel as van dr. S. S. Grove van die Departement Patologiese Anatomie en dr. M. C. Botha van die Westelike Provinsie Bloedoortappingsdiens, was onontbeerlik en word baie waardeer. Die kweekmedium T.C. 199 is goedgunstiglik verskaf deur die Departement Mikrobiologie (Afdeling Virologie) van die Universiteit van Kaapstad, terwyl die Provinsiale Werkswinkels baie moeite gedoen het om die nodige apparaat te vervaardig.

VERWYSINGS

1. Congdon, C. C. (1957): *Blood*, **12**, 746.
2. Porter, K. A. en Murray, J. E. (1958): *J. Nat. Cancer Inst.*, **20**, 189.
3. Ford, C. E., Hamerton, J. L., Barnes, D. W. H. en Loutit, J. F. (1956): *Nature*, **177**, 452.
4. Crouch, B. G. en Overman, R. R. (1957): *Fed. Proc.*, **16**, 27.
5. Thomas, E. D., Lochte, H. L., Lu, W. C. en Ferrebee, J. W. (1957): *New Engl. J. Med.*, **257**, 491.
6. Humble, J. G. en Newton, K. A. (1958): *Lancet*, **1**, 142.
7. Kurnick, N. B., Feder, B. H., Montano, A., Gerdes, J. C. en Nakamura, R. (1959): *Ann. Intern. Med.*, **51**, 1204.
8. Morrison, A. N. en Morrison, M. (1958): *Acta haemat.*, **20**, 378.
9. Osgood, E. E., Riddle, M. C. en Mathews, T. J. (1939): *Ann. Intern. Med.*, **13**, 357.
10. Morrison, M. en Samwick, A. A. (1940): *J. Amer. Med. Assoc.*, **115**, 1708.
11. Barnes, D. W. H. en Loutit, J. F. (1955): *J. Nat. Cancer Inst.*, **15**, 901.
12. Ferrebee, J. W., *et al.* (1959): *Blood* **14**, 140.