

Wybrane zagadnienia dotyczące terapii komórkowych w świetle doniesień prezentowanych na 33. Regionalnym Kongresie *International Society of Blood Transfusion (ISBT)* w Göteborgu, 17–21 czerwca 2023 roku

Joanna Janus , Katarzyna Chmielewska , Jolanta Antoniewicz-Papis 

Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Janus J, Chmielewska K, Antoniewicz-Papis J. Selected issues regarding cell therapies in light of reports presented at the 33rd Regional Congress of the International Society of Blood Transfusion (ISBT) in Gothenburg, June 17–21, 2023. *J Transf Med* 2023; 16 (3): 154–159. DOI: 10.5603/jtm.97617. Należy cytować wersję pierwotną.

Wstęp

Międzynarodowe Towarzystwo Przetaczania Krwi (ISBT, *International Society of Blood Transfusion*) jest wiodącym towarzystwem łączącym w sobie zagadnienia transfuzjologii klinicznej, laboratoryjnej czy bezpieczeństwa krwi i jej składników. Co 2 lata ISBT organizuje międzynarodowe i regionalne kongresy. W tym roku w dniach 17–21 czerwca gospodarzem 33. Regionalnego Kongresu był Göteborg (Szwecja). Kongres ten przygotowano wspólnie ze Szwedzkim Towarzystwem Immunologii Klinicznej i Medycyny Transfuzjologicznej (KITM, *Svensk Förening för Klinisk Immunologi och Transfusionsmedicin*). Kongres obejmował: *Nordic Day* (17 czerwca), podczas którego były prezentowane doniesienia z pięciu krajów skandynawskich, *Academy Day* (18 czerwca), w ramach którego były prezentowane wykłady edukacyjne obejmujące praktyczne aspekty dotyczące najbardziej aktualnych tematów w transfuzjologii oraz 3 dni (19–21 czerwca) sesji prezentujących najnowsze doniesienia z zakresu transfuzjologii oraz dziedzin pokrewnych. Niniejsza praca dotyczy wybranych zagadnień związanych

z terapiami komórkowymi przedstawionymi podczas Kongresu.

Terapie komórkowe

Trzy sesje wykładowe oraz część sesji plakatowej tegorocznego Regionalnego Kongresu ISBT zostały poświęcone terapiom komórkowym, w tym przeszczepianiu komórek krwiotwórczych (KK) oraz terapii CAR-T (*chimeric antigen receptor T-cell*). W ramach ISBT działa grupa robocza ds. terapii komórkowych, której celem jest podnoszenie świadomości na temat terapii komórkowych, wspieranie ich rozwoju oraz podnoszenie jakości w zakresie wykorzystania komórek do leczenia pacjentów. Grupa ma aktualnie rozpoczęte 4 projekty dotyczące: sztucznych łez (EDHO, *Eye Drops of Human Origin*), lizatów płytkowych (*Human Platelet Lysate – Current Standards and Future Developments workshop*), terapii komórkowych o nieudowodnionej skuteczności (*Unproven Cellular Therapies*) oraz podgrupę zajmującą się utworzeniem wytycznych dotyczących przetwarzania komórek macierzystych w ośrodkach stosujących GMP (*Guide to set up a GMP facility for Stem Cell Processing*). Jedną z ogromnych zalet stacjonarnego

Adres do korespondencji: mgr Joanna Janus, Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, ul. Indiry Gandhi 14, 02–776 Warszawa, tel. +48 22 34 96 388, e-mail: jjanus@ihit.waw.pl

Nadesłano: 31.08.2023

Przyjęto do druku: 14.09.2023

Data pierwszej publikacji: 27.09.2023

Artykuł jest dostępny bezpłatnie na podstawie licencji Creative Commons Attribution-Non-Commercial-No Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) umożliwiającej jego pobranie oraz udostępnianie pod warunkiem wskazania autorstwa i wydawcy. Niedopuszczalne jest wprowadzanie jakichkolwiek zmian lub wykorzystanie komercyjne bez zgody wydawcy.

Kongresu była możliwość networkingu z praktykami zajmującymi się na co dzień terapiami komórkowymi, którzy również działają w ramach wspomnianej grupy roboczej. Podczas *Academic Day* Rada Młodych Profesjonalistów ISBT (*The ISBT Young Professionals Council, YPC*) zorganizowała wydarzenie *Young Professionals networking breakfast*, podczas którego grupy podzielone według dziedziny dyskutowały o różnych aspektach swojej pracy z ekspertami z danej dyscypliny oraz innymi młodymi profesjonalistami. Aż dwie z sześciu grup zajmowały się tematem szeroko pojętych terapii komórkowych pod opieką ekspertek Denese Marks oraz Kathariny Schallmoser. Pierwszy dzień głównego programu naukowego otworzyła sesja *Meet the Experts sessions — Cellular Therapies* prowadzona przez Reinharda Henschlera i Mickey Koha. Poruszane tematy obejmowały między innymi aktualny stan i postępy w terapii komórkowej oraz nowe produkty terapii komórkowej powstające na bazie różnych preparatów krwi. W wielu pracach na Kongresie wspomniana była pandemia COVID-19 w nawiązaniu do utrudnień w wykonywaniu procedur pobierania, przeszczepienia czy rekrutacji dawców.

Zgłaszane na Kongres abstrakty z zakresu terapii komórkowych były podzielone na 4 grupy: 1) bankowanie komórek macierzystych i tkanek, w tym krwi pępowinowej, 2) pobieranie, przetwarzanie, przechowywanie i zwalnianie, 3) zastosowania kliniczne, 4) zgodność tkankowa w przeszczepianiu komórek macierzystych.

Ze względu na dużą liczbę doniesień zarówno w sesjach wykładowych, jak i plakatowej, w niniejszej pracy skupiono się tylko na najciekawszych pracach dotyczących przeszczepiania krwiotwórczych komórek macierzystych, CAR-T, nowoczesnych terapii komórkowych oraz dawców komórek krwiotwórczych.

Sesje wykładowe

Jedną z sesji organizowaną przez ISBT we współpracy z *Association for the Advancement of Blood & Biotherapies (AABB)* dotyczyła harmonizacji materiału z aferezy do wykorzystania w terapiach komórkowych.

Schwartz (Tampa, Stany Zjednoczone) zwrócił uwagę na różnice w wymaganiach dotyczących pobierania komórek w celu uzyskania limfocytów do terapii CAR-T. Na świecie jest prowadzonych coraz więcej badań klinicznych sprawdzających skuteczność CAR. Pojawiają się także nowe zarejestrowane leki CAR-T w różnych wskazaniach (w Stanach

Zjednoczonych obecnie jest to już 6 preparatów zatwierdzonych przez Agencję Żywności i Leków [FDA, Food and Drug Administration]). Jednym z kluczowych elementów związanych z wytworzeniem CAR-T jest przeprowadzenie efektywnego pobrania limfocytów oraz problem związany z brakiem dobrze zdefiniowanego kryterium aferezy [1]. Schwartz przedstawił wyniki badania zainicjowanego między innymi przez *American Society for Apheresis* — analiza obejmowała 621 badań klinicznych wykorzystujących terapię komórkami CAR-T, której celem było zebranie i ocena zmienności opisów pobierania materiału metodą aferezy. O samej aferezie wspomniano jedynie w 51,9% opisach badań. Obserwuje się także rozbieżności w wytycznych dotyczących samej aferezy — niektórzy sponsorzy/producenci wymagają przeprowadzenia aferezy na podstawie określonego czasu trwania aferezy, całkowitej objętości krwi (TBV, *total blood volume*), oznaczenia leukocytów (WBC) czy oznaczenia limfocytów CD3+. Wymienione w opisach parametry laboratoryjne sprawdzane w pobranym preparacie obejmowały WBC (100 badań), bezwzględną liczbę neutrofilii (220 badań), bezwzględną liczbę limfocytów (102 badania), komórki CD3+ (38 badań), hemoglobinę (233 badania) i płytki krwi (269 badań). Parametry laboratoryjne przydatne do pobierania komórek metodą aferezy opisywane w analizowanych badaniach są zmienne i niespójne z obecnymi praktykami [2]. Każda firma odpowiedzialna za dany Produkt Lecznicy Terapii Zaawansowanej (ATMP, *Advanced Therapy Medicinal Product*) lub produkt leczniczy CAR-T wypracowuje własne kryteria odnośnie kontroli jakości materiału. Jedynie niewielki procent ośrodków oznacza w materiale końcowym komórki CD3+, które to badanie okazuje się kluczowym parametrem jakościowym preparatu. Schwartz wskazywał na konieczność badania ekspresji antygeny powierzchniowego CD3 jako najlepszego wskaźnika jakości materiału pobranego do CAR-T.

Podczas wykładu Schwartza wywiązała się także dyskusja dotycząca problemów logistycznych ośrodków pobierających komórki do terapii CAR-T, różnic w metodach krioprezewacji komórek, badań jakościowych preparatów, a także mnogości audytów, tworzenia wielu procedur — osobnych dla każdego ATMP/produktu leczniczego CAR-T. Preparaty będące materiałem do produkcji CAR-T są oznaczane także różnymi kodami ISBT128. Wszystkie te aspekty utrudniają pracę ośrodkom pobierającym oraz zaangażowanym w procedurę bankom komórek i mogą stwarzać ryzyko błędów. Konieczne okazuje się wypracowanie jednolitego

standardu pobierania materiału do wytworzenia CAR-T, aby ułatwić pracę personelowi pobierającemu i/lub przetwarzającemu materiał, a także zminimalizować ryzyko popełnienia błędu oraz zredukować ilość tworzonej dokumentacji związanej z danym ATMP/produktem leczniczym.

Interesujący był wykład Schafera (Freiburg, Niemcy) dotyczący pobierania materiału od dawców allogenicznych. Obecnie wyjściowy materiał do produkcji CAR-T stanowiący limfocyty/komórki jednojądrzaste jest uzyskiwany głównie od dawców autologicznych — pacjentów cierpiących na nowotwory hematologiczne. Jednak procedura pobrania materiału od pacjenta jest narażona na liczne niepowodzenia, ponadto jest pracochłonna i kosztochłonna. Dlatego są opracowywane nowe metody wytwarzania CAR-T od dawców allogenicznych. Precyzyjna edycja genomu może pozwolić na opracowanie koncepcji produkcji allogenicznych immunologicznych terapii komórkowych. Podczas prezentacji omówiono potencjalne znaczenie stanu zdrowia i osobniczych cech pacjentów i dawców na jakość preparatów, a także praktyczne kwestie zarządzania dawcami, w tym odstępy między pobraniami, dyskwalifikacje czy identyfikację i kwalifikację dawcy. Ponadto w nawiązaniu do pracy Schwartza zostały omówione aspekty technik pobierania materiału dla terapii komórkowych wytwarzanych ze szpiku. Poruszona została także potrzeba krioprezewacji i jej wpływ na jakość materiału [3]. Podczas tej sesji zostały zaprezentowane również dwa badania Mauer i wsp. opisujące mniejszą częstość występowania przewlekłej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD, *graft-versus-host disease*) po transplantacji kriokonserwowanych allogenicznych KK od dawcy niespokrewnionego. W badaniu opisano także niewielki wpływ krioprezewacji na jakość KK i finalny efekt transplantacji. Badanie zostało przeprowadzone po wprowadzeniu wytycznych dotyczących obowiązkowej krioprezewacji allogenicznego materiału przeszczepowego w związku z pandemią COVID-19 [4, 5].

Podczas pozostałych sesji dotyczących terapii komórkowych zostały przedstawione doniesienia dotyczące nowych terapii. Od czasu wynalezienia CAR, które są jednym z największych osiągnięć ostatniej dekady w medycynie, wciąż są poszukiwane nowe metody opracowania CAR w leczeniu chorób hematologicznych i nie tylko. Coraz więcej mówi się o CAR-NK, które zamiast limfocytów T wykorzystują komórki NK (*ang. natural killers*). Ponieważ immunoterapia oparta na komórkach NK wymaga stosunkowo dużej liczby komórek, co nie jest łatwo osiągalne, podjęto próby opracowania

nowych metod pozyskiwania materiału. Moazzeni i wsp. (Teheran, Iran) w swojej pracy zaproponowali izolację komórek NK z filtrów do usuwania leukocytów (LRF, *leukoreduction filters*) w celu odzyskania komórek CAR-NK skierowanych przeciwko antygenowi dojrzewania komórek B (BCMA, *B-cell maturation antigen*), wykorzystywanych u pacjentów ze szpiczakiem mnogim. Zatrzymane w filtrach komórki zwykle są utylizowane wraz z filtrem. W badaniu leukocyty wyizolowano z LRF przy użyciu specjalnego płukania, a komórki NK oczyszczono przy użyciu zestawu do separacji kolumnowej MACS. Po izolacji została oceniona zdolność proliferacyjna i efekt cytotoksyczny otrzymanych komórek NK oraz obecność antygenów powierzchniowych. Komórki NK zostały następnie transdukowane wektorami lentiwirusowymi zawierającymi konstrukt CAR anty-BCMA drugiej generacji. Oceniono szybkość transdukcji i ekspresję konstrukt anty-BCMA na transdukowanych komórkach NK przy użyciu odpowiednich przeciwciał. Badania ekspresji CD107a CD16, CD56, IFN- γ i granzymu B wykonano metodami cytometrii przepływowej i metodą PCR. W wyniku izolacji uzyskano $85 \times 10^6 \pm 5,7$ komórek/filtr, co jest satysfakcjonującym wynikiem. Wyizolowane komórki były dobrej jakości z wysoce zachowaną proliferacją i zdolnością cytotoksyczną komórek NK [6].

Fernandez-Rodriguez (Owiedo, Hiszpania) przedstawiła wyniki badania klinicznego II fazy EudraCT 2008-003015-12, które dotyczyło leczenia odleżyn za pomocą produktu ATMP zawierającego komórki jednojądrzaste (MNC, *mononuclear cells*). Odleżyna definiuje się jako miejscowe uszkodzenie skóry i tkanki podskórnej, które pojawia się w wyniku intensywnego i długotrwałego ucisku i/lub tarcia. Z uwagi na wysokie ryzyko infekcji rany te stanowią istotne źródło śmiertelności wśród osób unieruchomionych. Tradycyjnie metoda leczenia opiera się na zabiegu chirurgicznym, który jest opatrzony ryzykiem niepowodzenia lub nawrotu. Badanie kliniczne miało na celu ocenę bezpieczeństwa i skuteczności terapii komórkowej u 92 pacjentów z odleżynami III/IV stopnia. W celu uzyskania produktu ATMP od pacjentów pobrano autologiczny szpik, który następnie rozcieńczono w stosunku 1: 1 w soli fizjologicznej z heparyną 100 UI/ml i wyizolowano MNC z wykorzystaniem Ficollu. W ten sposób uzyskano co najmniej 50×10^6 MNC, które ponownie zawieszano w heparynizowanej soli fizjologicznej, a następnie przefiltrowano. Tak przygotowany preparat (w objętości 10–12 ml) наносono na zamkniętą szwem oczysz-

czoną z tkanki martwiczej ranę. Średnia liczba komórek MNC w preparacie wynosiła $104,42 \times 10^6$. Zaobserwowano istotne różnice między grupą kontrolną (leczenie wyłącznie chirurgiczne) i grupą badaną (ATMP) w odsetku rozejścia się rany po 6 miesiącach i roku po operacji na korzyść konwencjonalnego leczenia oraz średniego czasu hospitalizacji na korzyść ATMP. Leczenie z wykorzystaniem komórek jednojądrzastych minimalizuje długość hospitalizacji, co skutkuje zmniejszeniem kosztów, lecz wyniki długoterminowej obserwacji wciąż wskazują konwencjonalne leczenie jako bardziej efektywne [7].

Khan (Birmingham/Oxford, Wielka Brytania) przedstawił prowadzone przez jego zespół badania nad wytworzeniem modelu organoidu szpiku, który wiernie odzwierciedla ludzką tkankę. Modele te są wykorzystywane do badań prawidłowej i patologicznej hematopoezy *in vitro* w mikrośrodku szpiku. Stworzony przez zespół model organoidu szpiku pochodził z ludzkich indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych. Uzyskane hodowle komórek poddawane ekspozycji na cytokiny zawierały między innymi komórki zrębu, komórki mieloidalne i ich progenitory. Wyhodowane tym sposobem komórki obejmowały megakariocyty, komórki erytroidalne, monocyty i progenitory granulocytów. Wytworzony zrąb obejmował rozgałęzioną, trójwymiarową sieć komórek śródbłonna wspieraną przez fibroblasty i komórki mezenchymalno-zrębowe. Powstały model oprócz możliwości testowania wpływu bodźców zapalnych na jamę szpikową umożliwia również wszczepianie komórek od zdrowych dawców i pacjentów z nowotworami krwi (w tym szpiczakiem mnogim, zwłóknieniem szpiku i ostrą białaczką limfoblastyczną), umożliwiając powstanie systemu *ex vivo* do badania hematopoezy [8].

Sesja plakatowa

Podczas kongresu poruszano wiele tematów z zakresu kwalifikacji, rekrutacji oraz bezpieczeństwa dawcy krwi oraz komórek krwiotwórczych. Jeden z plakatów przedstawiał wyniki obserwacji 56 dawców komórek macierzystych z krwi obwodowej (PBSC, *peripheral blood stem cell*) i szpiku (BM, *bone marrow*) (23 kobiety i 17 mężczyzn z medianą wieku 36 lat (22–52)). Dawcy PBSC przed pobraniem byli poddawali mobilizacji czynnika stymulującego kolonie granulocytów (G-CSF, *granulocyte colony-stimulating factor*) w dawce $12 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{dzień}$, w 86% była to mobilizacja 5-dniowa. Najczęściej zgłaszanymi objawami związanymi

z pobraniem były: ogólnoustrojowy i miejscowy ból mięśni, nudności, ból w miejscu wkłucia. U dawców zaobserwowano również słabą wydolność fizyczną i osłabienie (częściej u dawców BM niż PBSC). Po 1 miesiącu od pobrania 14% dawców BM i 13% dawców PBSC nadal skarżyło się na umiarkowany ból. Dziewięćdziesiąt pięć procent dawców PBSC już po 1–5 dniach rekonwalescencji nie zgłaszało żadnych objawów. W grupie dawców szpiku okres ten wynosił 6–15 dni [9].

Praca zespołu z Koreańskiego Czerwonego Krzyża (KRCBS) przedstawiła wyniki 4-letniej analizy rekrutacji dawców komórek krwiotwórczych. W koreańskim rejestrze dawców od początku jego istnienia, tj. 1994 roku, zarejestrowano 42 0217 potencjalnych dawców KK, spośród których 37,8% byli to dawcy zarejestrowani w KRCBS. W 2022 roku 50,9% dawców faktycznych pochodziło z rejestru KRCBS. Rejestr ten skupia się na tak zwanej rekrutacji indywidualnej prowadzonej przez wykwalifikowany personel pielęgniarski w ośrodkach krwiodawstwa. Program ten skierowany jest do wielokrotnych dawców krwi — 99,9% zarejestrowanych potencjalnych dawców KK było jednocześnie dawcami krwi. W pracy zawarto analizę skuteczności programu rekrutacji indywidualnej w porównaniu z rekrutacją grupową oraz porównanie wyników KRCBS z innymi organizacjami rekrutującymi dawców w latach 2019–2022. W czasie pandemii organizacje polegające na grupowych rekrutacjach wykazywały mniejszą skuteczność, przez co KRCBS odegrało istotną rolę w rekrutacji nowych potencjalnych dawców KK, gdy rekrutacja grupowa była ograniczona z powodu pandemii COVID-19 [10].

Useini i wsp. (Skopje, Macedonia Północna) w swojej pracy przedstawili doświadczenia ośrodka w pobieraniu PBSC metodą aferezy u pacjentów i zdrowych dawców. Pacjenci i dawcy byli mobilizowani czynnikiem G-CSF. Minimalnym celem aferezy było pobranie $2 \times 10^6/\text{kg}$ komórek CD34+ cells lub $2 \times 10^8/\text{kg}$ MNC. Separacja PBSC odbywała się za pomocą separatorów komórkowych Baxter CS3000, COBE Spectra oraz Spectra Optia z antykoagulantem ACD-A. Całkowita objętość krwi przetwarzana podczas aferezy mieściła się w zakresie 2,0–2,5. W latach 2000–2022 ośrodek wykonał 977 aferez PBSC, z czego 81% dotyczyło pacjentów autologicznych, a 19% zdrowych dawców, w tym 5 dawców niespokrewnionych. Pojedynczy zabieg aferezy trwał 180–270 minut, a objętość preparatów wynosiła 50–400 ml. Najczęstszymi wskazaniami do przeszczepienia autologicznego były: szpiczak mnogi (51,1%), ostra białaczka szpikowa (18,5%),

chłoniak nieziarniczny (13,6%), chłoniak Hodgkina (13,4%), natomiast wskazaniami do przeszczepienia allogenicznego były głównie: ostra białaczka szpikowa (55,8%), ostra białaczka limfoblastyczna (14,2%), przewlekła białaczka szpikowa (7,5%), ciężka anemia aplastyczna (5,8%), choroby mielo-proliferacyjne (5%) [11].

Metodą rutynowo stosowaną w celu utrzymania żywotności komórek przez dłuższy czas jest wspomniana krioprezerwacja KK. W tym celu do komórek jest dodawana mieszanina kriochronna chroniąca komórki przed tworzeniem się zewnątrzkomórkowych i wewnątrzkomórkowych kryształów. Mieszanina ta zawiera zazwyczaj odczynnik DMSO (dimetylosulfotlenek) w stężeniu 5–10% oraz w zależności od ośrodka osocze, albuminę lub hydroksyetylowaną skrobię (HES, *hydroxyethyl starch*). W związku z czasowymi brakami niektórych odczynników na rynku lub zmianą wytycznych ośrodki wypracowują nowe metody krioprezerwacji. W następstwie wstrzymania przez kraje UE produkcji HES, Jacobsen i wsp. (Trondheim, Norwegia) postanowili wykonać walidację procesu krioprezerwacji przy innych niż dotychczas stosowanych warunkach zamrażania. Celem walidacji było ustalenie krzywych zamrażania dla metody kriokonserwacji z 5-procentowym DMSO bez HES w zamrażarce -80°C oraz porównanie żywotności komórek w preparatach zamrożonych z dodatkiem HES. Materiał i pobrane próbki przed rozmrożeniem i analizą przechowywano w parach ciekłego azotu przez tydzień. Po rozmrożeniu zbadano żywotność komórek w preparatach KK i pobranych próbkach. Żywotność komórek wynosiła średnio 99,9% i 98,5% w produktach i próbkach zamrożonych przy użyciu 5-procentowego DMSO i HES oraz 99,7% i 98,8% przy zamrożeniu przy użyciu 5-procentowego DMSO. Uzyskane wyniki potwierdzają, że obie metody zamrażania dają podobną, odpowiednio wysoką żywotność komórek [12].

Toksyczne działanie DMSO oraz liczne skutki uboczne obserwowane u pacjentów po przeszczepieniu krioprezerwowanych KK skłaniają banki komórek do ulepszania swoich procedur preparatyki, w tym testowania różnych modyfikacji składu jakościowego i ilościowego mieszaniny kriochronnej czy roztworu stosowanego do odplukiwania DMSO po rozmrożeniu. W swoim badaniu zespół Al-Mozain (Rijad, Arabia Saudyjska) próbował ocenić wpływ zmniejszenia stężenia DMSO z 10% do 5% w mieszaninie kriochronnej na żywotność komórek. Badanie przeprowadzono na 10 losowych preparatach PBSC i szpiku. Każda donacja została poddana kriokonserwacji w dwóch

wariantach: dla stężeń 5% i 10% DMSO. Parametrami jakościowymi ocenianymi w preparatach przed kriokonserwacją oraz 2, 4 i 8 tygodni po rozmrożeniu były WBC, całkowita liczba komórek CD34+ i żywotność. Wyniki po 2, 4 i 8 tygodniach od kriokonserwacji wyraźnie wskazywały, że w preparatach o niższym stężeniu DMSO żywotność komórek była wyższa. W wyniku tej walidacji ośrodek uznał metodę z 5-procentowym DMSO za nowy standard krioprezerwacji preparatów KK od pacjentów pediatrycznych, u których skutki podania dużej ilości dimetylosulfotlenku mogą być bardzo poważne [13].

Podanie rozmrożonych preparatów KK z DMSO jako krioprotektantem zalecane jest w ciągu 10–15 minut od rozmrożenia, ponieważ w temperaturze pokojowej dimetylosulfotlenek wpływa niekorzystnie na komórki. Dlatego wiele ośrodków stosuje metody usunięcia DMSO przed podaniem KK pacjentowi. Jednymi z takich metod jest płukanie ludzką albuminą (HSA, *human albumin solution*) i dekstranem lub albuminą i HES. Larrea i wsp. (Walencja, Hiszpania) w swojej pracy opisali zastosowanie wyłącznie HSA jako środka wykorzystanego podczas płukania KK z powodu wspomnianych już niedoborów HES oraz dekstranu na rynku. Do badania wykorzystano 26 preparatów KK przeznaczonych do utylizacji. Wszystkie preparaty spełniały kryteria: końcowe stężenie komórek $< 3 \times 10^8$ komórek/ml, kriokonserwacja przy użyciu 10% DMSO w ciągu 24 godzin od pobrania w warunkach kontrolowanego mrożenia. Pojemniki były rozmrażane w łaźni wodnej o temperaturze 37°C . Po rozmrożeniu do KK dodawano roztwór płuczący zawierający HES-HSA (grupa kontrolna) lub roztwór HSA (grupa badana). W każdym końcowym produkcie bezpośrednio po płukaniu i po 60 minutach sprawdzano zawartość całkowitej liczby komórek jądrowych (TNC), żywotność i klonogenność. Nie stwierdzono istotnej różnicy w parametrach jakościowych badanych preparatów między grupami, więc uznano roztwór HSA za równoważny mieszaninie HSA-HES [14].

Podsumowanie

Liczne doniesienia prezentowane podczas 33. Regionalnego Kongresu ISBT pokazują, jak dynamicznie zmieniają się terapie komórkowe oraz jak wiele wciąż pozostaje do zbadania i potwierdzenia. Z każdym rokiem pojawia się coraz więcej doniesień o udoskonaleniu lub tworzeniu nowych terapii komórkowych ratujących życie pacjentów. Ośrodki pobierające i przetwarzające materiał muszą być

przygotowane na dynamiczne zmiany, takie jak zmiany standardów, braki materiałów i odczynników, oraz zapewnienie odpowiedniego bezpieczeństwa i jakości komórek. Ujednolicenia wymagają także wytyczne dotyczące pobierania limfocytów do terapii CAR-T, która nadal jest sporym wyzwaniem zarówno dla personelu laboratoryjnego, pielęgniarskiego oraz lekarskiego. Kluczowym aspektem pobrania materiału allogenicznego jest także sam dawca, który musi być dobrze przeprowadzony przez cały proces od rekrutacji aż do okresu po oddaniu KK.

Konflikt interesów: nie zgłoszono

Piśmiennictwo

1. Schwartz J. Growing variations in cell collections requirements. *Vox Sang.* 2023; 118(S1): 95, PA27–L02.
2. Thibodeaux S, Aqui N, Park Y, et al. Lack of defined apheresis collection criteria in publicly available CAR–T cell clinical trial descriptions: Comprehensive review of over 600 studies. *J Clin Apher.* 2022; 37(3): 223–236, doi: [10.1002/jca.21964](https://doi.org/10.1002/jca.21964), indexed in Pubmed: [35085413](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35085413/).
3. Schafer R. Managing PBMC donors during increasing demand for cell therapeutics. *Vox Sang.* 2023; 118(S1): 95, PA27–L01.
4. Maurer K, Kim HT, Garrity HM, et al. Lower incidence of chronic GVHD observed after transplantation with cryopreserved unrelated allogeneic stem cells. *Blood Adv.* 2023; 7(11): 2431–2435, doi: [10.1182/bloodadvances.2022009231](https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2022009231), indexed in Pubmed: [36595453](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36595453/).
5. Maurer K, Kim HT, Kuczmarowski TM, et al. Impact of cryopreservation and transit times of allogeneic grafts on hematopoietic and immune reconstitution. *Blood Adv.* 2021; 5(23): 5140–5149, doi: [10.1182/bloodadvances.2021005139](https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2021005139), indexed in Pubmed: [34581754](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34581754/).
6. Moazzeni A, Kheirandish M, Khamisipour G, et al. Leukoreduction filters (LRFs) as a novel source of CAR-NK cell based immunotherapy. *Vox Sang.* 2023; 118(S1): 46, PA09–L02.
7. Perez-Lopez S, Alvarez-Viejo M, Perez-Basterrechea M, et al. Pressure ulcer treatment with autologous bone-marrow mononuclear stem cells. EudraCT 2008-003015-12 results. *Vox Sang.* 2023; 118(S1): 110, A32–L03.
8. Khan A, Rodriguez-Romera A, Reyat J, et al. Bone marrow organoids. *Vox Sang.* 2023; 118(S1): 47, PA09–L04.
9. Rangel M, Pinho C, Bordalo F, et al. Real World Evidence (RWE) to assess effectiveness and safety of donors during and after cell and bone marrow collection. *Vox Sang.* 2023; 118(S1): 368, P532.
10. Kim N, Park S, Kwon S, et al. Unrelated hematopoietic stem cell donor recruitment of the Korean Red Cross Blood Services (2019–2022): The effect of repeat blood donor targeted recruitment. *Vox Sang.* 2023; 118(S1): 365, P526.
11. Useini S, et al. Grubovic Rastvorceva R, Stojanoski Z. Overview of apheresis collection of peripheral blood stem cells in hematologic patients and healthy donors. *Vox Sang.* 2023; 118(S1): 365, 528.
12. Jacobsen B, Teigum I, Gravås M. Validation of cryopreservation method for autologous hematopoietic stem cells without hydroxyethyl starch. *Vox Sang.* 2023; 118(S1): 366, P529.
13. Al-Mozain N, Al-Alem S, Al-Madhi S. Reducing the DMSO concentration in the cryopreservation mixture from 10% to 5% improves cell viability, results of a validation study. *Vox Sang.* 2023; 118(S1): 369, P537.
14. Larrea L, Vaya M, Vera B. An alternative washing solution for the thawing of cryopreserved hematopoietic stem cells. *Vox Sang.* 2023; 118(S1): 367, P530.