

Analiza retrospektywna zabiegów separacji komórek macierzystych krwi obwodowej wykonanych przy zastosowaniu separatorów komórkowych w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii

Peripheral blood stem cell collection by apheresis at the Warsaw Institute of Hematology and Transfusion Medicine; a retrospective analysis

Aleksandra Rosiek¹, Jolanta Antoniewicz-Papis¹, Elżbieta Lachert¹, Aleksandra Dzieciatkowska¹, Karolina Janik¹, Jolanta Kubis¹, Urszula Podstawka², Leszek Rzymkiewicz¹, Magdalena Łętowska¹

¹Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii

²Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii

Streszczenie

Wstęp: Pobieranie komórek macierzystych z krwi obwodowej metodą aferezy jest obecnie szeroko stosowaną metodą ich pozyskiwania w celu późniejszego przeszczepienia. Niniejsza praca ma na celu analizę zabiegów autologicznych donacji komórek macierzystych z krwi obwodowej wykonanych w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii w latach 1997–2009.

Materiał i metody: Przeprowadzono retrospektywną analizę protokołów donacji autologicznych komórek macierzystych uzyskanych z krwi obwodowej (PBSC). Przeanalizowano najczęstsze wskazania do zabiegu i niektóre parametry techniczne oraz jakość uzyskanych preparatów, w tym liczbę i żywotność leukocytów i komórek jednojądrzastych oraz liczbę komórek CD34+.

W omawianym okresie donacje u chorych przeprowadzono przy użyciu separatorów CS 3000 Plus (Fenwal) i Cobe Spectra (protokoły MNC i AutoPBSC, Gambro). Zazwyczaj donacje poprzedzała chemioterapia oraz stymulacja czynnikami wzrostu (najczęściej za pomocą czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów G-CSF).

Wyniki: W omawianym okresie wykonano 790 zabiegów u 234 chorych z chorobami układu krwiotwórczego (szpiczak mnogi, chłoniak, ziarnica, ostra białaczka limfoblastyczna i szpikowa). Liczba zabiegów wzrastała w kolejnych latach. Suma pobranych od poszczególnych chorych komórek CD 34+ wahała się w szerokim zakresie ($504,50\text{--}1493,96 \times 10^6$), a żywotność krwinek białych i komórek jednojądrzastych wynosiła ponad 90%. Średnia zawartość komórek CD 34+ w uzyskanych koncentratkach była większa w przypadku zabiegów przeprowadzonych przy użyciu protokołu Cobe MNC ($408,40 \times 10^6$) niż w przypadku stosowania protokołu Cobe AutoPBSC ($227,66 \times 10^6$) i separatora CS 3000 Plus ($207,44 \times 10^6$).

Wnioski: Wszystkie stosowane protokoły separacji umożliwiły zgromadzenie sumarycznej dawki komórek CD 34+ znacznie przekraczającej minimalną dla przeszczepienia docelową dawkę $2 \times 10^6/\text{kg mc}$. Rosnąca w kolejnych latach liczba donacji autologicznych PBSC świadczy o ewolucji przeszczepienia komórek macierzystych od terapii eksperymentalnej do powszechnie uznanej i szeroko stosowanej metody leczenia chorób układu krwiotwórczego.

Słowa kluczowe: komórki macierzyste, afereza, choroby rozrostowe układu krwiotwórczego

J. Transf. Med. 2011; 1: 23–31

Summary

Background: Apheresis is becoming an increasingly common method of peripheral blood stem cell (PBSC) collection for transplantation purposes. The aim of this study was to analyse and evaluate the autologous PBSC apheresis collections at the Institute of Hematology and Transfusion Medicine in Warsaw, in the period 1997–2009.

Material and methods: A retrospective analysis of apheresis autologous PBSC collection protocols was performed. The analysis comprised the most frequent indications for procedure, some technical parameters as well as the quality of components including the number of CD34+ cells harvested, the number and viability of white blood cells (WBC) and mononuclear cells (MNC).

All procedures within the study period were performed with either Fenwal CS 3000 Plus or Gambro Cobe Spectra (MNC and AutoPBSC apheresis protocols) cell separators, usually following chemotherapy and recombinant hematopoietic growth factor administration.

Results: Within the study period, a total of 790 apheresis procedures were performed in 234 patients with diagnosis of various hematological diseases such as: multiple myeloma, Hodgkin's disease, non-Hodgkin's lymphoma, acute lymphoblastic leukaemia and acute myelogenous leukaemia. The number of procedures was observed to gradually increase in the sequential years.

For individual patients, the total number of collected CD34+ cells ranged from 504.50 to 1493.96×10^6 ; WBC and MNC viability > 90%. A mean CD34+ cell content per apheresis product was higher with Cobe Spectra MNC apheresis protocol (408.40×10^6) than with both Cobe AutoPBSC and CS 3000 Plus (227.66×10^6 and 207.44×10^6 respectively).

Conclusions: According to all the apheresis protocols, the total number of harvested CD34+ cells far exceeded the transplantation minimum of $2 \times 10^6/\text{kg}$ per kilogram body weight. The increasing number of autologous PBSC donations observed in the sequential years reflects the evolutionary tendency in stem cell transplantation; from experimental therapy to well-established and commonly used treatment in a large variety of hematological diseases.

Key words: stem cells, apheresis, myelo- and lymphoproliferative diseases

J. Transf. Med. 2011; 1: 23–31

Wstęp

Transplantacja komórek macierzystych układu krwiotwórczego jest uznaną metodą leczenia wielu wrodzonych i nabytych schorzeń, przede wszystkim układu krwiotwórczego, a także chorób nowotworowych leczonych chemio- i radioterapią. Istotą zabiegu jest przeszczepienie komórek krwiotwórczych w ilości zapewniającej trwałe odtworzenie się hematopojezy. U człowieka przeszczepienie stosunkowo

niewielkiej liczby komórek macierzystych umożliwia nieraz pełną regenerację układu krwiotwórczego.

W początkach rozwoju transplantacji jako jedyne źródło komórek macierzystych do przeszczepiania służyły komórki szpiku (BMT, *bone marrow transplantation*). W latach 90. XX wieku stwierdzono jednak, że komórki macierzyste układu krwiotwórczego można pobierać także z krwi obwodowej (PBSC, *peripheral blood stem cells*) po zastosowaniu chemioterapii i stymulacji hematopoetycznymi

czynnikami wzrostu (G-CSF [*granulocyte colony-stimulating factor*] lub GM-CSF [*granulocyte macrophage-colony stimulating factor*]) w przypadku chorych lub tylko czynnikami wzrostu w przypadku dawców. Komórki macierzyste izoluje się następnie z krwi przy użyciu separatora komórkowego, tak zwaną metodą aferezy. Metoda ta szybko stała się najszerzej stosowanym sposobem pozyskiwania komórek macierzystych: w 2003 roku 97% przeszczepów autologicznych i 65% przeszczepów allogenicznych pochodziło z krwi obwodowej [1]. Wiązało się to z szybszą regeneracją granulocytów i płytek, ale również z większą wygodą pobierania i ze zmniejszeniem ryzyka powikłań u dawcy.

Obecnie często stosowanym określeniem jest przeszczepianie macierzystych komórek krwiotwórczych (HSCT, *hemopoietic stem cell transplantation*) lub przeszczepianie komórek krwiotwórczych (HCT, *hemopoietic cell transplantation*) [2].

Przeszczepiane komórki macierzyste mogą pochodzić od dawcy zgodnego z biorcą w zakresie antygenów układu HLA (*human leukocyte antigen system*, przeszczepienie allogeniczne) albo mogą być wcześniej pobrane od chorego i zamrożone (przeszczepienie autologiczne).

W praktyce klinicznej identyfikacja komórek macierzystych szpiku jest możliwa dzięki ekspresji na ich powierzchni antygeny CD34, należącego do grupy molekuł adhezyjnych. Jednak tylko niewielka frakcja komórek CD34+ (prawdziwe komórki macierzyste) posiada potencjał do odbudowania wszystkich linii komórek układu krwiotwórczego; pozostałe komórki to bardziej zróżnicowane progenitory poszczególnych linii krwiotwórczych, które mogą zapewnić szybką, ale jedynie przejściową hematopoezę. Szczególne cechy komórek macierzystych to: duży potencjał proliferacyjny, zdolność zagnieżdżania się w szpiku po podaniu dożylnym oraz możliwość przechowywania w stanie zamrożonym i rozmrażania, co ma szczególne znaczenie w przypadku przeszczepień autologicznych.

Dla uzyskania szybkiej regeneracji granulocytów obojętnochłonnych i krwinek płytkowych jest potrzebna zazwyczaj dawka komórek CD34+ wynosząca przynajmniej $2 \times 10^6/\text{kg}$ masy ciała, chociaż zdaniem niektórych autorów w wielu przypadkach wystarcza niższa dawka, według innych zaś — lepsze skutki przynosi stosowanie jeszcze większych dawek [1, 3].

Celem pracy było przeprowadzenie retrospektywnej analizy zabiegów separacji komórek macierzystych z krwi obwodowej chorych, wykonywanych z zamiarem przeprowadzenia przeszczepienia autologicznego.

Materiał i metody

Przeprowadzono analizę dokumentacji zabiegów wykonanych w latach 1997–2009, przy uwzględnieniu ich liczby, niektórych parametrów technicznych i wskazań do stosowania.

Separacja komórek macierzystych

Donacje autologiczne u chorych przeprowadzano najczęściej po zastosowaniu chemioterapii oraz stymulacji czynnikami wzrostu granulocytów (najczęściej G-CSF). Izolację komórek macierzystych z krwi obwodowej przeprowadzano przy użyciu separatorów komórkowych:

- CS 3000 Plus (Fenwal) przy użyciu wkładów separacyjnych GRANULO, A-35/SVCC;
- Cobe Spectra (Gambro) z zastosowaniem procedur umożliwiających izolację frakcji komórek jednojądrzastych krwi obwodowej, zawierającej komórki CD34+ (program leukocytarny MNC lub specjalistyczna procedura AutoPBSC).

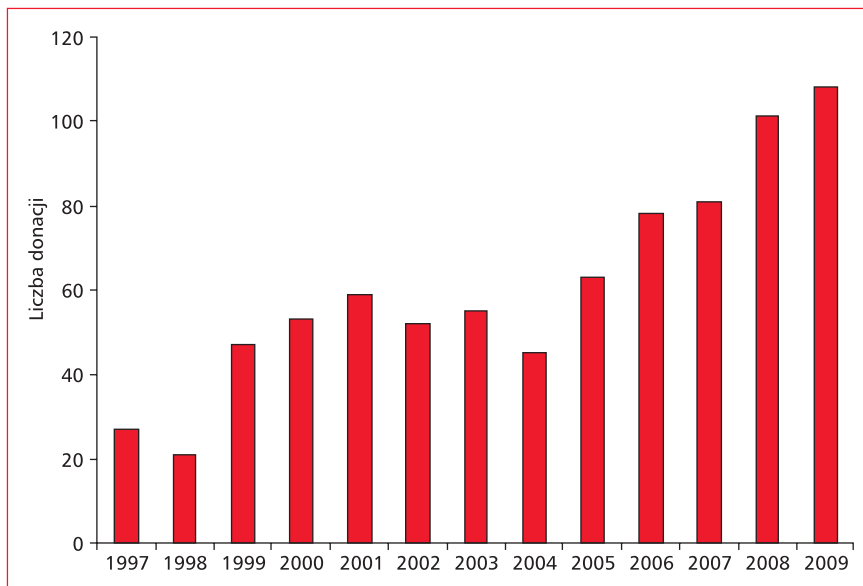
Badania koncentratów

Oznaczano:

- **liczbę krwinek białych** (WBC, *white blood cells*) w $1 \mu\text{l}$ przy użyciu analizatora hematologicznego Sysmex K-4500, firmy Toa Medical Electronics Comp. (Kobe, Japonia);
- **liczbę komórek jednojądrzastych** (MNC, *mononuclear blood cells*) przy użyciu cytofluorometru przepływowego Cytoron Absolute (Ortho Diagnostic). Na cytogramie RT-SC *v.* FW-SC zakładano bramkę na komórki odpowiadające morfologicznie komórkom jednojądrzastym i odczytywano odsetek komórek ze wszystkich leukocytów znajdujących się w bramce;
- **odsetek komórek CD 34+** metodą cytometrii przepływowej przy użyciu aparatu Cytoron Absolute firmy Ortho Diagnostic z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych anty CD34PE (klon anty HPCA-2) firmy Becton Dickinson;
- **żywołność leukocytów i komórek jednojądrzastych** oznaczano metodą cytofluorometryczną przy użyciu aparatu Cytoron Absolute (Ortho Diagnostic), stosując jodek propydyiny (Sigma).

Dalsza preparatyka i przechowywanie

W pobranych preparatach oznaczano zawartość leukocytów i doprowadzano je do takiej objętości, aby liczba leukocytów wynosiła od 2 do $4 \times 10^8/\text{ml}$. Preparaty o zawartości leukocytów poniżej $2 \times 10^8/\text{ml}$



Rycina 1. Liczba autologicznych donacji komórek macierzystych w latach 1997–2009

Figure 1. Number of autologous peripheral blood stem cell donations in 1997–2009

wirowano w temperaturze 4°C, przy 600 × g, przez 10 min. Preparaty o zawartości leukocytów powyżej $4 \times 10^8/\text{ml}$ rozcieńczano roztworem 5-procentowej albuminy aż do uzyskania końcowej zawartości komórek około $3,5 \times 10^8/\text{ml}$.

Mieszanie kriochronną zawierającą 20% DMSO (*dimethyl sulfoxide*) i 80% roztworu 5-procentowej ludzkiej albuminy schładzano do temperatury +4°C i dodawano do komórek macierzystych w proporcji 1:1, tak że końcowe stężenie DMSO w zamrażanym preparacie wynosiło 10%. Tak przygotowany preparat przelewano do pojemnika kriogenicznego (Cryocyte, Baxter lub DF-200, Fresenius), umieszczano w aparacie do kontrolowanego mrożenia (IceCube 1810, SY-LAB, Austria) i zamrażano z prędkością 1°C/min do uzyskania temperatury -60°C, a następnie z prędkością 3°C/min do osiągnięcia temp. -90°C. Po zakończeniu zamrażania pojemniki przenoszono do par azotu w celu dalszego przechowywania.

Analiza statystyczna wyników

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu programu Microsoft Excel.

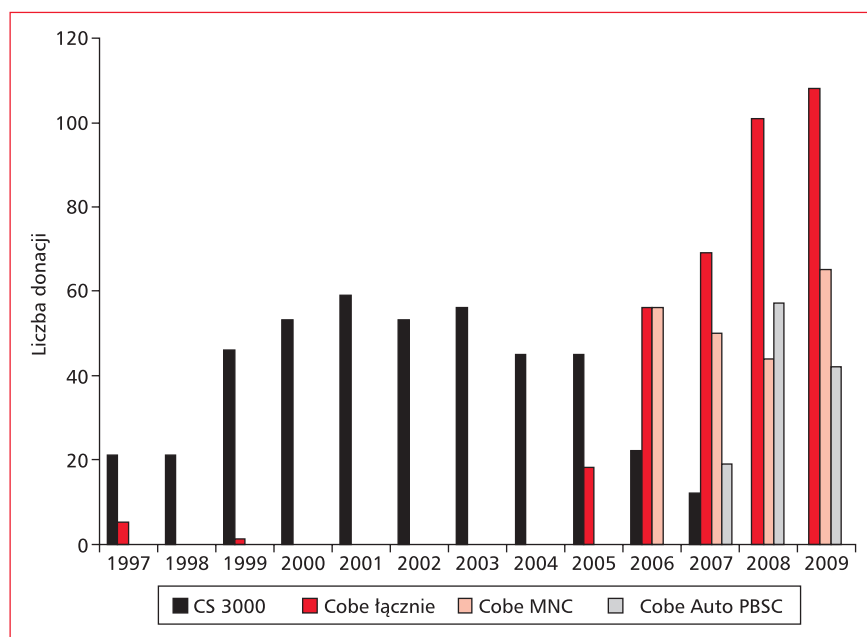
Wyniki

W latach 1997–2009 wykonano ogółem 790 zabiegów separacji autologicznych komórek macierzystych u 234 chorych (93 kobiet, 141 mężczyzn) w wieku 18–77 lat.

W kolejnych latach liczba zabiegów wykazywała tendencję wzrostową, co szczególnie zaznaczyło się w okresie 2006–2009 (ryc. 1). Większość zabiegów (433) wykonano przy użyciu separatora CS 3000 Plus, a 338 — przy użyciu separatora Cobe Spectra (w tym 204 zabiegi wg protokołu MNC, a 110 — AutoPBSC). Separator CS 3000 Plus był wykorzystywany przede wszystkim w latach 1997–2004; poczynając od 2005 roku coraz więcej zabiegów wykonywano przy użyciu separatora Cobe, a w latach 2008–2009 separator CS 3000 Plus nie był już w tym celu stosowany (ryc. 2).

Niektóre parametry zabiegów wykonanych przy użyciu separatorów Cobe i CS 3000 Plus przedstawiono w tabeli 1. Średni czas trwania zabiegu wynosił od 172 min (Cobe, protokół MNC) do 194 min (Cobe, protokół AutoPBSC). W indywidualnych przypadkach czas pobierania bywał jednak znacznie dłuższy (do 320 min). Aby można było pobrać komórki macierzyste, przez obwód krążenia pozaustrojowego separatora musiało przepłynąć 6912–15 588 ml krwi dawcy autologicznego.

Najważniejszym wskaźnikiem efektywności separacji była zawartość komórek CD 34+ w uzyskanym koncentracie. Była ona największa w przypadku zabiegów przeprowadzonych przy użyciu protokołu Cobe MNC ($p < 0,05$) i wynosiła średnio $408,40 \times 10^6$. W przypadku stosowania protokołu Cobe AutoPBSC średnia zawartość CD 34+ w koncentracie wynosiła $227,66 \times 10^6$, a przy wykorzystaniu separatora CS 3000 Plus — $207,44 \times 10^6$ (tab. 2).



Rycina 2. Wykorzystanie separatorów CS 3000 Plus i Cobe Spectra (w tym protokołów MNC i AutoPBSC) w celu pobierania PBSC do autologicznego przeszczepienia w latach 1997–2009; PBSC (*peripheral blood stem cells*) — komórki macierzyste układu krwiotwórczego z krwi obwodowej

Figure 2. Autologous PBSC donation with Fenwal CS 3000 Plus and Gambro Cobe Spectra (MNC and AutoPBSC apheresis protocols) cell separators in 1997–2009

Tabela 1. Niektóre parametry zabiegów pobierania PBSC przy użyciu separatorów CS 3000 i Cobe Spectra z zastosowaniem protokołów MNC i AutoPBSC

Table 1. Some technical parameters of apheresis procedures with Fenwal CS 3000 Plus and Gambro Cobe Spectra cell separators

	CS 3000		Cobe MNC		Cobe AutoPBSC	
	Średnia	SD*	Średnia	SD	Średnia	SD
Czas trwania (min)	184,29	5,35	172,79	19,59	194,73	23,55
Objętość krwi [ml]	9928,57	188,98	9914,24	2191,08	10559,71	1923,73
Antykoagulant [ml]	918,57	86,30	825,05	180,98	876,45	165,53
Prędkość pobierania [ml/min]	58,57	3,78	59,02	13,83	59,50	13,05

PBSC (*peripheral blood stem cells*) — komórki macierzyste układu krwiotwórczego z krwi obwodowej; SD (*standard deviation*) — odchylenie standardowe

Protokół Cobe MNC okazał się również najbardziej wydajny pod względem czasu trwania zabiegu: szybkość pobierania komórek CD 34+ wynosiła średnio $2,34 \times 10^6$ /kom./min (tab. 3).

Pomiędzy wydajnością pojedynczych zabiegów występowały jednak znaczne indywidualne różnice, o czym świadczy rozbieżność między najmniejszą ($0,65 \times 10^6$) i największą ($7646,0 \times 10^6$) zawartością komórek CD 34+ w badanych preparatach.

Liczba zabiegów wykonywanych u poszczególnych chorych wynosiła 1–13 (średnio 3 do 4 zabie-

gów). Na ogół powtarzano je w kolejnych dniach, w niektórych przypadkach jednak donacje przeprowadzano w kilku seriach na przestrzeni 2–4 lat.

Osoby poddawane zabiegom to pacjenci z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego i chłonnego, zakwalifikowani do autologicznego przeszczepienia krwiotwórczych komórek macierzystych. Najczęstszym rozpoznaniem kwalifikującym do przeszczepienia komórek macierzystych układu krwiotwórczego z krwi obwodowej AutoPBSC (PBSC *transplantation*) był szpiczak plazmocytowy

Tabela 2. Zawartość komórek CD34+ ($\times 10^6$) w koncentraty PBSC uzyskanych przy użyciu separatorów CS 3000 Plus i Cobe Spectra

Table 2. CD34+ cell content per PBSC apheresis product with Fenwal CS 3000 Plus and Gambro Cobe Spectra cell separators

	Zawartość komórek CD34+ $\times 10^6$ w koncentracjach			
	Średnia	SD	Min.	Maks.
CS 3000 Plus	207,44	348,47	0,65	2967
Cobe MNC	408,40	841,75	4,25	7646,00
Cobe AutoPBSC	227,66	517,17	17,02	4912,00

PBSC (*peripheral blood stem cells*) — komórki macierzyste układu krwiotwórczego z krwi obwodowej; SD (*standard deviation*) — odchylenie standardowe

Tabela 3. Wydajność separacji komórek CD34+ ($\times 10^6$) w przeliczeniu na minutę zabiegu w preparatach uzyskanych przy użyciu separatorów CS 3000 Plus i Cobe Spectra

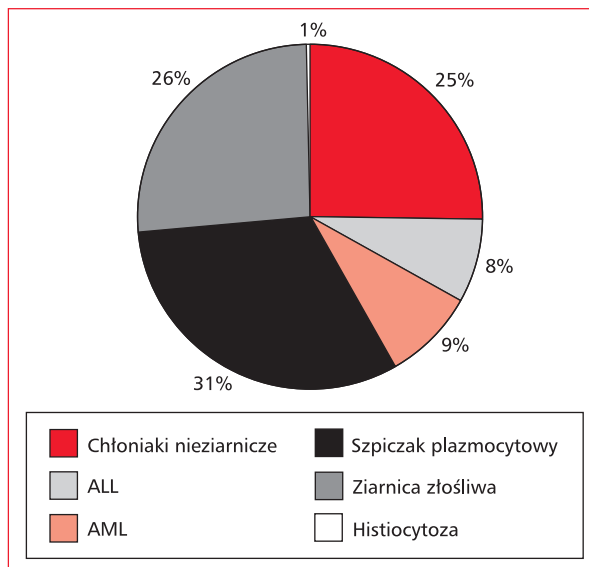
Table 3. CD34+ cell collection per one minute of apheresis procedure with Fenwal CS 3000 Plus and Gambro Cobe Spectra cell separators

	Liczba kom. CD 34+ $\times 10^6$ /minutę zabiegu			
	Średnia	SD	Min.	Maks.
CS 3000 Plus	1,15	1,93	0,01	16,48
Cobe MNC	2,34	4,90	0,03	47,79
Cobe AutoPBSC	1,19	2,70	0,10	25,32

SD (*standard deviation*) — odchylenie standardowe

(31% chorych), a następnie chłoniaki nieziarnicze, ziarnica złośliwa, ostra białaczka limfoblastyczna (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) i szpikowa (AML, *acute myeloid leukemia*) oraz histiocytoza z komórek Langerhansa (1 przypadek) (ryc. 3). Liczbę donacji PBSC w grupach pacjentów z różnymi jednostkami chorobowymi przedstawiono w tabeli 3.

Wyniki badań sumarycznej liczby WBC, MNC, liczby komórek CD 34+ oraz żywotności leukocytów i komórek jednojądrzastych w koncentraty pobranych od chorych w czasie wszystkich przeprowadzonych zabiegów przedstawiono w tabelach 4–8. Suma pobranych komórek CD 34+ wynosiła średnio od $504,50 \times 10^6$ w grupie chorych na AML do $1493,96 \times 10^6$ w przypadkach ALL (tab. 5). W indywidualnych przypadkach łączna liczba pobranych komórek była jednak bardzo zróżnicowana ($4,24$ – $12\,558 \times 10^6$



Rycina 3. Procentowy udział chorych z różnymi rozpoznaniami oddających PBSC do celów autologicznego przeszczepienia; PBSC (*peripheral blood stem cells*) — komórki macierzyste układu krwiotwórczego z krwi obwodowej; ALL (*acute lymphoblastic leukemia*) — ostra białaczka limfoblastyczna; AML (*acute myeloid leukemia*) — ostra białaczka szpikowa szpikowa

Figure 3. Percentage of patients with various diagnoses donating PBSC for autologous transplantation

Tabela 4. Liczba donacji PBSC w grupach pacjentów z różnymi rozpoznaniami

Table 4. The number of PBSC donations in patients with various diagnoses

	Liczba donacji/chorego			
	Średnia	SD	Min.	Maks.
Chłoniaki nieziarnicze	3,36	1,48	2	10
ALL	3,44	0,96	2	5
AML	3,71	1,45	1	7
Szpiczak plazmocytowy	3,41	1,85	1	13
Ziarnica złośliwa	3,15	1,60	1	11
Histiocytoza z komórek Langerhansa	3,00*	–	–	–

PBSC (*peripheral blood stem cells*) — komórki macierzyste układu krwiotwórczego z krwi obwodowej; *jeden przypadek; SD (*standard deviation*) — odchylenie standardowe; ALL (*acute lymphoblastic leukemia*) — ostra białaczka limfoblastyczna; AML (*acute myeloid leukemia*) — ostra białaczka szpikowa

na pacjenta). Duże rozbieżności występowały także w przypadku sumarycznej liczby pobranych WBC i MNC (tab. 6, 7).

Żywotność WBC i MNC wynosiła średnio ponad 90% (tab. 8, 9). Zabiegi aferezy były na ogół

Tabela 5. Całkowita liczba komórek CD34+ pobranych od pacjentów z różnymi rozpoznaniemiami**Table 5.** Total number of CD34+ cells harvested from patients with various diagnoses

	Suma kom. CD 34+ × 10 ⁶ /chorego			
	Średnia	SD	Min.	Maks.
Chłoniaki nieziarnicze	1305,76	2325,08	49,50	12558,00
ALL	1493,96	2604,02	8,36	10541,00
AML	504,50	480,34	4,24	2518,40
Szpiczak plazmocytowy	779,89	736,75	91,91	4002,00
Ziarnica złośliwa	1137,67	1062,57	21,12	4823,00
Histiocytoza z komórek Langerhansa	811,56	–	–	–

SD (*standard deviation*) — odchylenie standardowe; ALL (*acute lymphoblastic leukemia*) — ostra białaczka limfoblastyczna; AML (*acute myeloid leukemia*) — ostra białaczka szpikowa

Tabela 6. Całkowita liczba krwinek białych pobranych od pacjentów z różnymi rozpoznaniemiami**Table 6.** Total number of white blood cells harvested from patients with various diagnoses

	Całkowita liczba krwinek białych × 10 ⁹ /chorego			
	Średnia	SD	Min.	Maks.
Chłoniaki nieziarnicze	80,94	71,10	11,05	375,80
ALL	63,28	42,99	12,89	145,50
AML	67,96	54,97	4,01	244,64
Szpiczak plazmocytowy	82,18	53,34	11,10	276,64
Ziarnica złośliwa	81,77	80,71	11,12	527,60
Histiocytoza z komórek Langerhansa	190,37	–	–	–

SD (*standard deviation*) — odchylenie standardowe; ALL (*acute lymphoblastic leukemia*) — ostra białaczka limfoblastyczna; AML (*acute myeloid leukemia*) — ostra białaczka szpikowa

Tabela 7. Całkowita liczba komórek jednojądrzastych pobranych od pacjentów z różnymi rozpoznaniemiami w wyniku wszystkich przeprowadzonych donacji PBSC**Table 7.** Total number of mononuclear cells harvested from patients with various diagnoses

	Całkowita liczba komórek jednojądrzastych × 10 ⁹ /chorego			
	Średnia	SD	Min.	Maks.
Chłoniaki nieziarnicze	41,86	28,56	10,33	122,83
ALL	33,36	22,01	10,77	100,30
AML	42,39	31,63	2,80	162,33
Szpiczak plazmocytowy	36,40	25,27	4,77	101,20
Ziarnica złośliwa	38,19	26,31	5,54	129,13
Histiocytoza z komórek Langerhansa	48,68	–	–	–

PBSC (*peripheral blood stem cells*) — komórki macierzyste układu krwiotwórczego z krwi obwodowej; SD (*standard deviation*) — odchylenie standardowe; ALL (*acute lymphoblastic leukemia*) — ostra białaczka limfoblastyczna; AML (*acute myeloid leukemia*) — ostra białaczka szpikowa

dobrze tolerowane przez chorych, a najczęstsze obserwowane powikłania to objawy hipokalcemii i reakcje wazowagalne. W niektórych przypadkach występowały ponadto problemy z dostępem do naczyń (w wielu przypadkach konieczne było założenie wkłucia centralnego).

Dyskusja

W ciągu ostatnich 50 lat nastąpił znaczny rozwój metodyki przeszczepiania komórek krwiotwórczych ze szpiku lub krwi, dzięki czemu ten sposób leczenia uzyskał wiodącą rolę w terapii chorób nowotworowych

Tabela 8. Żywotność krwinek białych (%) w koncentratkach PBSC pobranych od pacjentów z różnymi rozpoznaniemami**Table 8.** White blood cells viability in PBSC preparates from patients with various diagnoses

	Żywotność krwinek białych (%)			
	Średnia	SD	Min.	Maks.
Chłoniaki nieziarnicze	97,24	3,02	85,55	99,73
ALL	94,77	5,42	81,10	99,40
AML	97,57	1,82	92,72	99,67
Szpiczak plazmocytowy	95,94	6,12	93,57	99,85
Ziarnica złośliwa	97,26	3,74	79,14	99,73
Histiocytoza z komórek Langerhansa	99,53	–	99,3	99,70

PBSC (*peripheral blood stem cells*) — komórki macierzyste układu krwiotwórczego z krwi obwodowej; SD (*standard deviation*) — odchylenie standardowe; ALL (*acute lymphoblastic leukemia*) — ostra białaczka limfoblastyczna; AML (*acute myeloid leukemia*) — ostra białaczka szpikowa

Tabela 9. Żywotność komórek jednojądrzastych (%) w koncentratkach PBSC pobranych od pacjentów z różnymi rozpoznaniemami**Table 9.** Mononuclear blood cells viability in PBSC preparates from patients with various diagnoses

	Żywotność komórek jednojądrzastych (%)			
	Średnia	SD	Min.	Maks.
Chłoniaki nieziarnicze	98,84	1,66	91,53	99,98
ALL	95,49	8,06	69,10	99,87
AML	99,00	1,20	94,70	100,00
Szpiczak plazmocytowy	97,49	4,75	70,77	100,00
Ziarnica złośliwa	98,91	2,67	83,34	99,93
Histiocytoza z komórek Langerhansa	99,9	–	99,8	100

PBSC (*peripheral blood stem cells*) — komórki macierzyste układu krwiotwórczego z krwi obwodowej; SD (*standard deviation*) — odchylenie standardowe; ALL (*acute lymphoblastic leukemia*) — ostra białaczka limfoblastyczna; AML (*acute myeloid leukemia*) — ostra białaczka szpikowa

układu krwiotwórczego i chłonnego oraz guzów litych. Wprowadzono wiele nowych metod transplantacji, a liczba wykonywanych zabiegów w samej tylko Europie przekracza 12 000/rok [1]. Do rozwoju transplantacji przyczyniły się nowe techniki pobierania komórek krwiotwórczych z krwi oraz doskonalenie metod ich oczyszczania i przechowywania. W miarę postępu badań nad przeszczepianiem szpiku, wskazania do tych zabiegów ulegają ciągłym zmianom, obejmując nowe dziedziny medycyny [4–13].

Należy zaznaczyć, że wprawdzie przeszczepianie komórek macierzystych weszło już do standardów leczenia niektórych schorzeń (głównie hematologicznych), w wielu innych przypadkach jest jednak nadal terapią eksperymentalną.

Zalecane wskazania do przeszczepiania autologicznych komórek macierzystych to przede wszystkim [14]:

— nawrotowe, agresywne i bardzo agresywne chłoniaki nieziarnicze;

- nawrotowe postacie chłoniaka Hodgkina;
- AML u dorosłych chorych o złym rokowaniu w pierwszej całkowitej remisji (CR, *complete remission*) lub w drugiej CR bez możliwości przeszczepienia allogenicznego;
- ALL u dorosłych chorych o złym rokowaniu w pierwszej całkowitej remisji, bez możliwości przeszczepienia allogenicznego;
- szpiczak plazmocytowy (w II i III okresie zaawansowania);
- amyloidoza pierwotna.

Rozpoznania ustalone u pacjentów poddawanych zabiegom w omawianym okresie (szpiczak plazmocytowy, chłoniaki nieziarnicze, ziarnica złośliwa, ALL, AML) należą więc do typowych wskazań do przeszczepiania autologicznych komórek macierzystych, jakkolwiek w każdym przypadku decyzje o pobraniu PBSC były podejmowane indywidualnie przez lekarzy prowadzących. Należy wspomnieć, że o możliwości przeszczepienia komórek macierzy-

stych i o wyborze metody transplantacji decyduje nie tylko rozpoznanie, ale również wiele innych czynników, a w szczególności:

- faza choroby i czas jej trwania;
- stosowane poprzednio leczenie;
- cechy osobnicze chorego, w tym jego wiek metrykalny i biologiczny;
- obecność schorzeń współistniejących;
- dostępność ewentualnego dawcy.

Oceniając techniczne aspekty pobierania PBSC metodą aferezy, można stwierdzić, że dla wszystkich stosowanych protokołów średnia sumaryczna dawka pobranych od poszczególnych chorych komórek CD 34+ znacznie przekraczała minimalną docelową dawkę $2 \times 10^6/\text{kg}$ mc., chociaż w pojedynczych przypadkach nie udało się jej uzyskać (tab. 5).

Wydajność pojedynczych zabiegów ma istotne znaczenie dla ustalenia liczby separacji niezbędnej dla dokonania przeszczepienia PBSC.

W omawianym okresie najbardziej wydajną metodą separacji komórek CD 34+ okazał się protokół Cobe MNC, co jednak nie oznacza, że powinien on być stosowany z wyboru w każdym przypadku. W przeprowadzonej równolegle analizie porównawczej protokołów MNC i AutoPBSC wykazano bowiem, że o ile protokół MNC jest procedurą bardziej wydajną w przypadku chorych z większą liczbą komórek macierzystych we krwi obwodowej (powyżej 0,2%), o tyle zastosowanie procedury AutoPBSC może umożliwić zwiększenie wydajności separacji w przypadku chorych z małą liczbą komórek CD 34+ obecnych we krwi przed zabiegiem [15]. Do zalet protokołu AutoPBSC należą ponadto mała objętość krwi w obwodzie krążenia pozaustrojowego, mniejsza objętość produktu i niewielka utrata płytek przez pacjenta.

Obserwowany w ostatnich latach wzrost liczby pobrań PBSC świadczy o rosnącym zainteresowaniu lekarzy tą metodą leczenia. Jest to tendencja zgodna z ogólnosiątkowymi trendami. Doskonalenie metodyki sprzyja poprawie wyników transplantacji komórek macierzystych i zmniejszeniu częstości powikłań. Postępy biologii molekularnej i immunologii, będące podstawą innych współcześnie stosowanych metod leczenia, mogą być także wykorzystane do doskonalenia metod transplantacji.

Piśmiennictwo

1. Rashidi H.H., Rowley S.D. Autologous Transplantation. W: Simon L., Snyder E.L., Solheim B.G. i wsp. (red.). Rossi's Principles of Transfusion Medicine. Blackwell Publishing LTD, 2009; 521–541.
2. Hołowiecki J. Współczesne wskazania do transplantacji szpiku. *Współczesna Onkologia* 2001; 5: 201–209.
3. Benn H., Rowley S.D. Bone marrow and peripheral blood stem cell transplantation. W: Hillyer C.D., Silberstein L.E., Ness P.M. i wsp. (red.). Blood banking and transfusion medicine. Churchill Livingstone, Philadelphia 2007: 787–822.
4. Dazzi F., van Laar J.M., Cope A., Tyndall A. Cell therapy for autoimmune diseases. *Arthritis Res. Ther.* 2007; 9: 206.
5. Hugel T., van Laar J.M. Stem cell transplantation for rheumatic autoimmune diseases. *Arthritis Res. Ther.* 2008; 10: 217.
6. Kapoor S., Wilson A.G., Sharrack B. i wsp. Haemopoietic stem cell transplantation — an evolving treatment for severe autoimmune and inflammatory diseases in rheumatology, neurology and gastroenterology. *Hematology* 2007; 12: 179–191.
7. Fassas A., Kazis A. High-dose immunosuppression and autologous hematopoietic stem cell rescue for severe multiple sclerosis. *J. Hematother. Stem Cell Res.* 2003; 12: 701–11.
8. Van Wijmeersch B., Sprangers B., Dubois B., Waer M., Billiau A.D. Autologous and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for Multiple Sclerosis: perspective on mechanisms of action. *J. Neuroimmunol.* 2008; 197: 89–98.
9. Burt R.K., Loh Y., Pearce W. i wsp. Clinical applications of blood-derived and marrow-derived stem cells for nonmalignant diseases. *JAMA* 2008; 299: 925–936.
10. Mancardi G., Saccardi R. Autologous haematopoietic stem-cell transplantation in multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2008; 7: 626–636.
11. Al-Toma A., Mulder C.J. Stem cell transplantation for the treatment of gastrointestinal diseases — current applications and future perspectives. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2007; 26 (supl. 2): 77–89.
12. Iacob R., Sirbu-Boeti P., Iacob S. i wsp. Stem cells therapies for gastrointestinal and liver diseases. *Chirurgia (Bucur)* 2009; 104: 131–140.
13. Ljungman P., Bregni M., Brune M. i wsp. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe 2009. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45 (2): 219–234.
14. Provan D., Singer C.R.J., Baglin T. i wsp. Transplantacja. W: Hołowiecki J. (red.). *Hematologia kliniczna*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2009: 329–376.
15. Wiszniewska-Gauer E., Antoniewicz-Papis J., Podstawka E., Łętowska M. Separacja krwiotwórczych komórek macierzystych z krwi obwodowej; porównanie dwóch protokołów pobierania — MNC oraz AutoPBSC. *Acta Haemat. Pol.* 2009; 40: 133–134.