

Zarządzanie HSCT



Zarządzanie przeszczepem hematopoetycznych komórek macierzystych przed i po aferezie

Wyzwania związane z przeszczepianiem hematopoetycznych komórek macierzystych

Przeszczepienie hematopoetycznych komórek macierzystych, czyli HSCT (ang. hematopoietic stem cell transplantation) jest bardzo skuteczną metodą leczenia nowotworów hematologicznych i innych chorób. Jest to również trudna procedura dla klinicystów i wiąże się z ryzykiem dla pacjentów. HSCT jest leczeniem, które obejmuje supresję układu krwiotwórczego pacjenta za pomocą chemioterapii lub radioterapii i jego odbudowę komórkami macierzystymi wcześniej pobranymi od danego pacjenta lub komórkami pochodzącymi od innego dawcy. Jedną z korzyści płynących przy zastosowaniu takiego rozwiązania jest umożliwienie bardziej intensywnego leczenia u pacjentów z guzami opornymi. Ponadto same przeszczepione komórki mogą mieć leczniczy wpływ u pacjentów z nowotworami hematologicznymi [1, 2].

HSCT przebiega w następujących fazach:

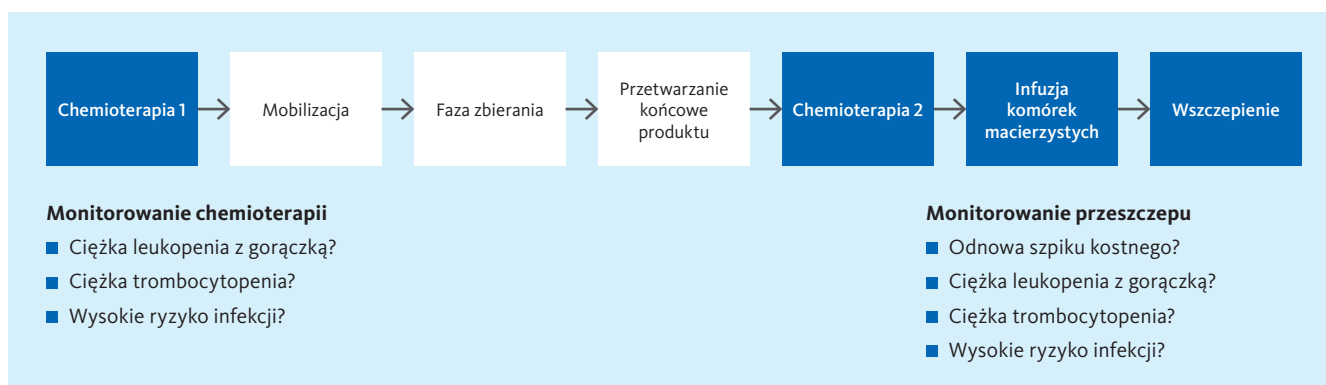
- Chemioterapia (w autologicznym HSCT), po której następuje mobilizacja komórek macierzystych z użyciem cytokin
- Zbieranie komórek macierzystych w procesie aferezy
- Obróbka końcowa produktu aferezy
- Intensywna chemioterapia
- Infuzja komórek macierzystych
- Wszczep do szpiku kostnego po infuzji komórek macierzystych

W tym artykule omówiono etapy HSCT przed i po aferezie. Stanowi on odpowiedź na wyzwania i zwraca uwagę na wartość dodaną, jaką analizator hematologiczny XN może zapewnić w tym procesie. Więcej informacji na temat rozwiązania „XN Stem Cells” do oznaczania komórek macierzystych można znaleźć w artykule „Przeprowadzenie efektywnej aferezy komórek macierzystych”.

Lekarz prowadzący leczenie napotyka na szczególne wyzwania podczas różnych etapów HSCT. W wyniku chemioterapii układ krwiotwórczy pacjenta jest całkowicie zniszczony lub poważnie upośledzony. Prowadzi to do ciężkiej leukopenii i osłabienia układu odpornościowego, co zwiększa ryzyko infekcji i sepsy. Dotyczy to również etapu wszczepienia – pacjent jest obciążony dużym ryzykiem infekcji do czasu odbudowy własnego układu odpornościowego. Kliniczne pytanie na tym etapie brzmi: „Czy pacjent ma infekcję?”.

Chemioterapia wpływa nie tylko na leukocyty, ale także na megakariocyty, co prowadzi do ciężkiej trombocytopenii. Małopłytkowość obserwuje się od etapu wszczepienia do czasu przywrócenia prawidłowej produkcji płytek krwi. Kliniczne pytanie na tym etapie brzmi: „Czy pacjent wymaga transfuzji płytek krwi?”.

Na etapie wszczepienia lekarz prowadzący chce wiedzieć: „Czy przeszczep komórek macierzystych się powiodł? Kiedy pacjent znajdzie się poza grupą ryzyka krwawienia i infekcji?”.



Ryc. 1 Wyzwania podczas HSCT

Zaawansowane aplikacje analizatora XN, a także raportowane przez nie parametry pomagają odpowiedzieć na wszystkie te pytania poprzez rutynowe badanie krwi, wspomagając podejmowanie decyzji klinicznych podczas HSCT.

Rozwiązania XN do monitorowania infekcji podczas HSCT

Pacjenci poddawani chemioterapii często mają ciężką leukopenię i są narażeni na wysokie ryzyko infekcji. Informacje o aktualnym stanie pacjentów można uzyskać z rutynowej morfologii krwi, wykonywanej na analizatorach serii XN. Tryb „Low WBC” pozwala na dostarczenie wysoce precyzyjnych i wiarygodnych wyników oznaczeń liczby leukocytów, wraz z ich różnicowaniem, dla próbek z ciężką leukopenią. Analizatory Sysmex serii XN oferują także zaawansowane parametry stanu zapalnego, umożliwiające ocenę ilościową oraz charakteryzującą populacje aktywowanych neutrofilii i limfocytów.

Kilka ostatnich badań wykazało, że parametry te są przydatne we wczesnym wykrywaniu i monitorowaniu zakażeń [3–6]. Parametry charakteryzujące granulocyty obojętnochłonne uzyskane z serii XN mogą poprzedzać pojawienie się markerów infekcji późniejszego stadium, takich jak niedojrzałe granulocyty [4]. Ponadto niedawne badanie wykazało, że zarówno parametr RE-LYMP (limfocyty reaktywne) i parametr AS-LYMP (limfocyty syntetyzujące przeciwciała) wzrastały głównie w infekcjach wirusowych [3]. Wartość RE-LYMP wzrastała tylko w niektórych zakażeniach bakteryjnych, a wartość AS-LYMP wzrastała nieznacznie w zakażeniach bakteryjnych (nieswoiste komórki plazmatyczne T-niezależne).

W innym badaniu z udziałem dzieci w wieku poniżej pięciu lat stwierdzono, że NEUT-RI (reaktywność neutrofilii) była zwiększona u pacjentów z infekcjami bakteryjnymi, w porównaniu z grupą kontrolną [7]. Jednak wartości RE-LYMP i AS-LYMP były istotnie wyższe tylko u pacjentów z infekcjami wirusowymi, w porównaniu do pacjentów z infekcjami bakteryjnymi lub do osób zdrowych.

Parametry te mogą zatem pomóc w wykrywaniu i różnicowaniu infekcji, tak aby można było bezzwłocznie podjąć skuteczne leczenie. Szczegółowe informacje na temat parametrów związanych ze stanem zapalnym i infekcją, otrzymywanych na analizatorach serii XN można znaleźć w artykule „Monitorowanie odpowiedzi układu odpornościowego za pomocą nowych parametrów hematologicznych”.

Monitorowanie małopłytkowości podczas HSCT na analizatorach XN

W trakcie, a także bezpośrednio po chemioterapii pacjenci często wykazują niską liczbę płytek krwi spowodowaną zmniejszeniem ilości megakariocytów w szpiku kostnym. Niska liczba płytek krwi wiąże się z wysokim ryzykiem krwawienia i często wymaga przetoczenia koncentratu płytek krwi. Proponowanym progiem skłaniającym do profilaktycznego przetoczenia koncentratu u stabilnych pacjentów jest 10 000 PLT/ μ l. W przypadku występowania czynników ryzyka takich jak splenomegalia, niedobory czynników krzepnięcia lub przewlekłe krwawienie próg ten to 20 000 PLT/ μ l [8]. Transfuzje wiążą się jednak z wyższym ryzykiem zakażeń wirusowych, bakteryjnych czy alloimmunizacją i z tego powodu, jeśli to możliwe, powinny być unikane [8]. Dlatego tak ważne jest dokładne określenie liczby płytek w granicach progowych (10 000 lub 20 000/ μ l, w zależności od placówki szpitalnej).

Analizatory serii XN wykorzystujące fluorescencyjną cytometrię przepływową oferują możliwość bardzo dokładnego określania liczby płytek krwi (PLT-F). Metoda ta wykazuje znakomitą korelację z cytometrią przepływową wykorzystującą znakowanie przeciwciałami, która jest „złotym standardem” [8–10]. Dodatkowo dostarcza wiarygodnych wyników u pacjentów z krytycznie niską liczbą płytek krwi.

Chemioterapia powoduje zniszczenie komórek w obrębie układu krwi obwodowej i szpiku kostnego, co znacząco podwyższa ilość fragmentów komórek występujących w krwi krążącej. Jednakże

nie zakłócają one fluorescencyjnego pomiaru liczby płytek PLT-F, gdyż fluorescencyjna cytometria przepływowa minimalizuje interferencje wpływające na pomiar płytek. Z tego powodu ta metoda może dostarczyć najbardziej wiarygodny wynik pomiaru ilości płytek krwi – nawet w pobliżu wartości granicznych dla decyzji o wykonaniu transfuzji.

Monitorowanie wszczepienia podczas HSCT na analizatorach XN

Wszczepione komórki macierzyste poprzez chemotaksję odnajdują drogę do szpiku kostnego w wyniku migracji do organu, z którego pochodzą. Po osiedleniu w szpiku kostnym, komórki macierzyste zaczynają dzielić się asymetrycznie by wytworzyć kolejne komórki macierzyste i progenitorowe. Te ostatnie będą odpowiedzialne za odtworzenie całego układu krwionośnego pacjenta. Średnio proces ten zajmuje do dwóch tygodni, ale czas wszczepu w dużej mierze może zależeć od wcześniej występującego nowotworu i schematu terapii. Podczas odnowy układu hematopoetycznego (wszczepu), pacjent jest w dużym stopniu narażony na infekcje, a także ryzyko krwawienia, z powodu ciężkiej trombocytopenii. Lekarz prowadzący potrzebuje informacji o przyjęciu się wszczepu tak szybko jak to możliwe, i potwierdzenia, że liczba dojrzałych komórek krwi jest na wystarczająco wysokim poziomie do znacznego zmniejszenia ryzyka krwawienia czy infekcji. Określone parametry otrzymane z morfologii krwi mogą być użyteczne jako markery aktywności szpiku kostnego.

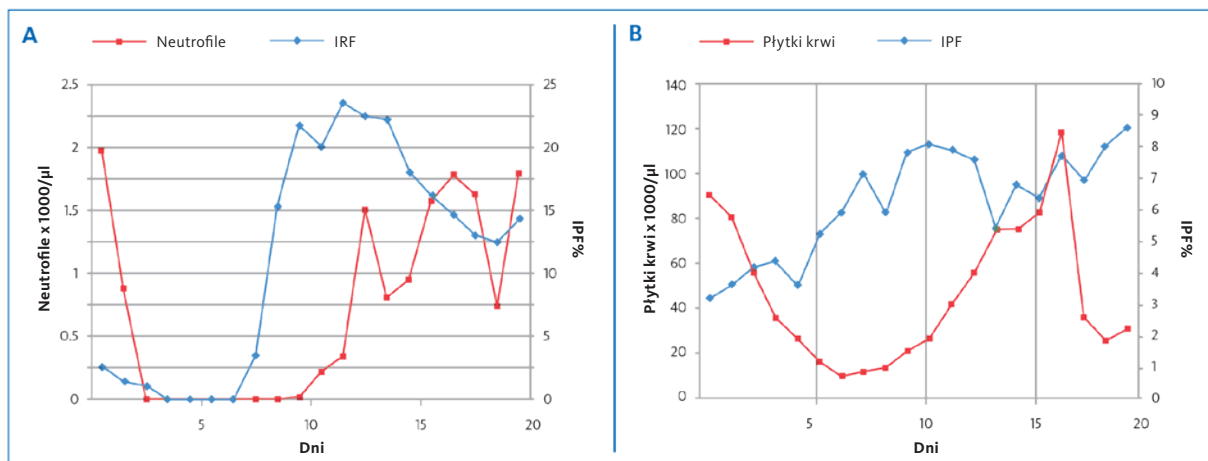
Oznaczenie retikulocytów może się odbywać przy wykorzystaniu fluorescencji dzięki obecności RNA w tych komórkach. Parametr IRF (frakcja niedojrzałych retikulocytów) wskazuje odsetek najmniej dojrzałych retikulocytów we krwi.

Parametr IPF (frakcja niedojrzałych płytek krwi) wskazuje na stosunek niedojrzałych płytek krwi do całkowitej liczby płytek w krwi obwodowej pacjenta. Komórki te zostały opisane w 1992 r. przez Ault i wsp., którzy użyli określenia aby opisać duże, świeżo wypuszczone na obwód płytki posiadające wyższą zawartość RNA. Ich obecność korelowała z aktywnością megakariocytów. Płytki retikularne lub IPF mogą być uważane za analogi retikulocytów w populacji krwinek czerwonych.

Zarówno IRF jak i IPF są markerami aktywności szpiku kostnego i udowodniono, że są predyktorami odnowy szpiku kostnego po przeszczepie komórek macierzystych [11 – 13].

IRF, wskaźnik stanu erytropoezy, wykazał dobrą korelację z wszczepem neutrofilii [11, 12]. Zjawisko to może być wyjaśnione przez fakt, że wszystkie linie komórkowe posiadają wspólne komórki progenitorowe (w podobny sposób IPF koreluje z wszczepem nie tylko płytek krwi, ale także erytrocytów [13]). Podobnie do IPF, który wzrasta przed wszczepem płytek, wzrost IRF został zaobserwowany 5 dni przed wzrostem liczby neutrofilii (ryc. 2A). Wartości odcięcia dla IRF, wskazujące na prawidłowe przyjęcie się wszczepu dla neutrofilii, wahają się od 6,2 do 10% [11, 12].

IPF jest markerem udanego wszczepu linii megakariocytów i predyktorem odnowy płytek. Liczba IPF wzrasta 4–5 dni przed wzrostem liczby PLT (ryc. 2B) [11, 12]. W różnych badaniach podano inne wartości odcięcia dla IPF jako predyktora udanego przeszczepu, wahające się w zakresie od 3,5 do 10% [11–13]. Wykorzystując wartość IPF podczas fazy wszczepu po HSCT, lekarz prowadzący może przewidzieć nadchodzący wzrost liczby płytek i uniknąć niepotrzebnych transfuzji.



Ryc. 2 IRF i IPF jako markery odnowy szpiku kostnego po HSCT. Na podstawie Morkis i wsp. 2014 [12].

A) IRF jako marker wszczepienia neutrofilii. B) IPF jako marker wszczepienia płytek.

Wnioski

HSCT to skuteczna, ale wymagająca metoda leczenia nowotworów hematologicznych oraz niektórych innych schorzeń. Sukces HSCT w dużej mierze zależy od opieki nad pacjentem podczas chemioterapii i w fazie powrotu do zdrowia.

Analizatory hematologiczne serii XN oferują nie tylko rozwiązanie do optymalizacji aferezy komórek macierzystych. Dostarczają również parametrów pozwalających lepiej monitorować stan pacjenta w trakcie terapii, w tym w fazie przed i po aferezie. Zastosowanie trybu "Low WBC" pozwala na otrzymanie wiarygodnej liczby leukocytów oraz ich różnicowania, nawet w przypadku próbek z silną leukopenią. Połączenie specjalnych parametrów krwinek białych umożliwia wczesne wykrycie i scharakteryzowanie infekcji.

Pomiar PLT-F dostarcza bardzo dokładnej liczby płytek, także w przypadku ciężkiej trombocytopenii, co pozwala na podjęcie decyzji o ewentualnym przetoczeniu preparatu płytek krwi. Parametry IPF i IRF mogą służyć jako markery wczesnego wszczepu płytek i neutrofilii.

Wszystkie wspomniane wyżej parametry mogą zostać uzyskane wraz z morfologią krwi obwodowej bez potrzeby obciążania pacjenta dodatkowymi testami diagnostycznymi.

Źródła

- [1] **Copelan EA et al. (2006):** Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med.* 354(17): p. 1813–26.
- [2] **Hatzimichael E et al. (2010):** Hematopoietic stem cell transplantation. *Stem Cells Cloning.* 3: p. 105–17.
- [3] **Prodjosoewojo S et al. (2019):** A novel diagnostic algorithm equipped on an automated hematology analyzer to differentiate between common causes of febrile illness in Southeast Asia. *PLoS Negl Trop Dis* 13(3): e0007183.
- [4] **Cornet E et al. (2015):** Contribution of the new XN-1000 parameters NEUT-RI and NEUT-WY for managing patients with immature granulocytes. *Int J Lab Hematol.* 37(5): p. e 123–6.
- [5] **Luo Y et al. (2013):** Utility of neut-X, neut-Y and neut-Z parameters for rapidly assessing sepsis in tumor patients. *Clin Chim Acta.* 422: p. 5–9.
- [6] **Park SH et al. (2015):** Sepsis affects most routine and cell population data (CPD) obtained using the Sysmex XN-2000 blood cell analyzer: neutrophil-related CPD NE-SFL and NE-WY provide useful information for detecting sepsis. *Int J Lab Hematol.* 37(2): p. 190–8.
- [7] **Henriot I et al. (2016):** New parameters on the hematology analyzer XN-10 (Sysmex™) allow to distinguish childhood bacterial and viral infections. *Int J Lab Hematol.* Aug 30. (ahead of print).
- [8] **Schoorl M et al. (2013):** New fluorescent method (PLT-F) on Sysmex XN2000 hematology analyzer achieved higher accuracy in low platelet counting. *Am J Clin Pathol.* 140(4): p. 495–9.
- [9] **Park SH et al. (2015):** The new Sysmex XN-2000 automated blood cell analyzer more accurately measures the absolute number and the proportion of hematopoietic stem and progenitor cells than XE-2100 when compared to flow cytometric enumeration of CD34+ cells. *Ann Lab Med.* 35(1): p. 146–8.
- [10] **Tanaka Y et al. (2014):** Performance evaluation of platelet counting by novel fluorescent dye staining in the XN-series automated hematology analyzers. *J Clin Lab Anal.* 28(5): p. 341–8.
- [11] **Goncalo AP et al. (2011):** Predictive value of immature reticulocyte and platelet fractions in hematopoietic recovery of allograft patients. *Transplant Proc.* 43(1): p. 241–3.
- [12] **Morkis IV et al. (2015):** Assessment of immature platelet fraction and immature reticulocyte fraction as predictors of engraftment after hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Lab Hematol.* 37(2): p. 259–64.
- [13] **Takami A et al. (2007):** Immature platelet fraction for prediction of platelet engraftment after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 39(8): p. 501–7.