



VI. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ 19-21 NİSAN 2019 – GAZİANTEP NOVOTEL

Multipl Miyelom Hücrelerine Karşı Otolog Kök Hücre ve Mononükleer Hücrelerden Dendritik Hücre Üretilmesi (Kanser Aşısı)

Yazarlar : Dr. Ayşe Birekul - Öğrenci Gülşen Buğday - Prof. Ali Ünal - Dr. Zeynep Burçin GÖNEN - Prof. Mustafa Yavuz Köker

Kurum : Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji B.D

GİRİŞ - AMAÇ

Multipl Myelom hastalığının standart tedavisi, kemoterapi ile tümör yükünü azalttıktan sonra, Otolog Kök Hücre Nakli (OKHN) yapılmasıdır. OKHN sonrası vücutta kalan minimal düzeydeki Malin plazma hücrelerini ortadan kaldırılması için idame tedaviler yapılmaktadır. Bu amaçla çeşitli çalışmalarda, OKHN sonrası Kanser Aşısı da denenmiş ve başarılı sonuçlar bildirilmiştir. Tümör aşısı, hem tümöre karşı spesifik olmasından dolayı konvansiyonel tedavilere göre yan etkisi daha az, hem de hafıza özelliğine sahip olmasından dolayı daha uzun koruma özelliğine sahiptir.

Biz kliniğimizde, Multipl Myelom hastalarında, OKHN nakli sonrası, Dendritik Hücre temelli Kanser aşısı hazırlayarak, rezidüel miyelom hücrelerine karşı etkili olunabileceğini göstermek istedik.

METOD

Kanser aşısı ile, spesifik immun cevabı sağlamak amacıyla, miyelom hücrelerine karşı dendritik hücre üretimi planlandı. Antijen sunan hücre olan dendritik hücreye, miyelom hücrelerinin antijenik yapıları tanıtılarak tümör spesifik lenfositlerin aktive edilmesi ve çoğaltılması hedeflenmiştir.

Multipl miyelom hastasından toplanan kemik iliği numunesi ile otolog nakil olacak multipl miyelom hastalarından toplanan kök hücre ve mononükleer hücrelerden alınan numune, birlikte kültür edilmek üzere hazırlandı. Bu karışıma IL-4+GM-CSF sitokin kombinasyonu eklenerek hazırlanan flasklar en uygun kültür şartları olarak belirlenen %5'lik CO₂'li, 37°C sıcaklıkta ve nemli ortama sahip inkübatörde, kültür edildi. Daha sonra akım sitometri laboratuvarında 48, 72 ve 96. saatlerde ekim ürününden numuneler alınarak üretilen Dendritik Hücrelerin aktivitesi ve canlılıkları değerlendirildi.



VI. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ 19-21 NİSAN 2019 – GAZİANTEP NOVOTEL

BULGULAR

Üretilen Dendritik Hücre yüzeylerindeki, CD14, CD34, CD45, CD80, CD83, CD86 ve CD209 antijenik yapılarıdaki değişimler, akım sitometri cihazı ile 0, 48, 72 ve 96. Saatlerde ölçüldü. Miyelom hücresi lizatı ile birlikte kültüre edilen, kök hücre ve mononükleer hücre karışımının, dendritik hücreye dönüşümü değerlendirildi. Üretilen dendritik Hücreler, Annexin-V kiti ile viabilite / Canlılık yönünden incelendi.

Şekil 1. Uygulamanın kültür öncesi ve kültür sonrası akım sitometrik analizi

Tablo 1. Kültür öncesi ve kültür sonrası antikorların ekspresyon düzeyleri

Yüzey Markerları	Kültür Saatleri
0. SAAT	
48. SAAT	
72. SAAT	
96. SAAT	
CD14	
40,06	
80,70	
77,72	
220,57	
CD34	
0,14	
0,21	
0,16	
0,25	
CD45	
16,85	
49,02	
51,74	
57,53	



VI. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ 19-21 NİSAN 2019 – GAZİANTEP NOVOTEL

CD80

0,32

4,65

4,72

9,95

CB83

0,48

5,68

3,10

6,02

CD86

1,14

7,31

10,74

15,43

CD209

2,70

47,65

92,38

89,32

HLA-DR

0,37

6,96

13,52

13,26

(Not: Hücre kültür işleminin 0, 48, 72 ve 96. saatlerde alınan numunelerdeki akım sitometrik analizlere bağlı yüzey markerların (antikorların) ekspresyon düzeyindeki değişimler).



VI. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ 19-21 NİSAN 2019 – GAZİANTEP NOVOTEL

SONUC

Hastadan alınan Otolog Kök Hücre ve Mononükleer Hücreler ile Myelom Hücre lizatına IL-4+GM-CSF sitokin kombinasyonunun eklenmesi ve hücre kültürü için 37°C sıcaklığa, %5 CO₂'li ve nemli bir ortama sahip inkübatör kullanılması, dendritik hücre üretimi, matürasyonu ve canlılığı için en uygun ortam olduğu tespit edildi. Bu çalışmanın birinci aşamasında; Multipl miyelom hastalarına uygulanabilir bir dendritik hücre bazlı otolog tümör aşısı eldesi için ilk basamakta gerekli özellikte dendritik hücrelerin üretimi sağlandı. İkinci aşama olarak; Multipl Myelom hastaları için hazırlanan Dendritik Hücrelerin, OKHN sonrası hastalara uygulanarak Rezidüel hastalığı ortadan kaldırması, Hastalısız yaşam ve Toplam yaşam üzerine etkisi incelenecektir.

ANAHTAR KELİMELER

Multipl miyelom, Hücre kültürü, Dendritik hücre, Tümör aşısı.