



MULTİPL MİYELOM HÜCRELERİNE KARŞI OTOLOG KÖK HÜCRE VE MONONÜKLEER HÜCRELERİNDEN DENDRİTİK HÜCRE ÜRETİLMESİ (TÜMÖR AŞISI ÜRETİLMESİ)



Gülşen Buğday¹, Ali Ünal², Mustafa Yavuz Köker³, Huriye Çelikkencir⁴

¹Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Bilimleri, Kayseri, ²Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, Kayseri, ³Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri, Kayseri, ⁴Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, Kayseri

Amaç:

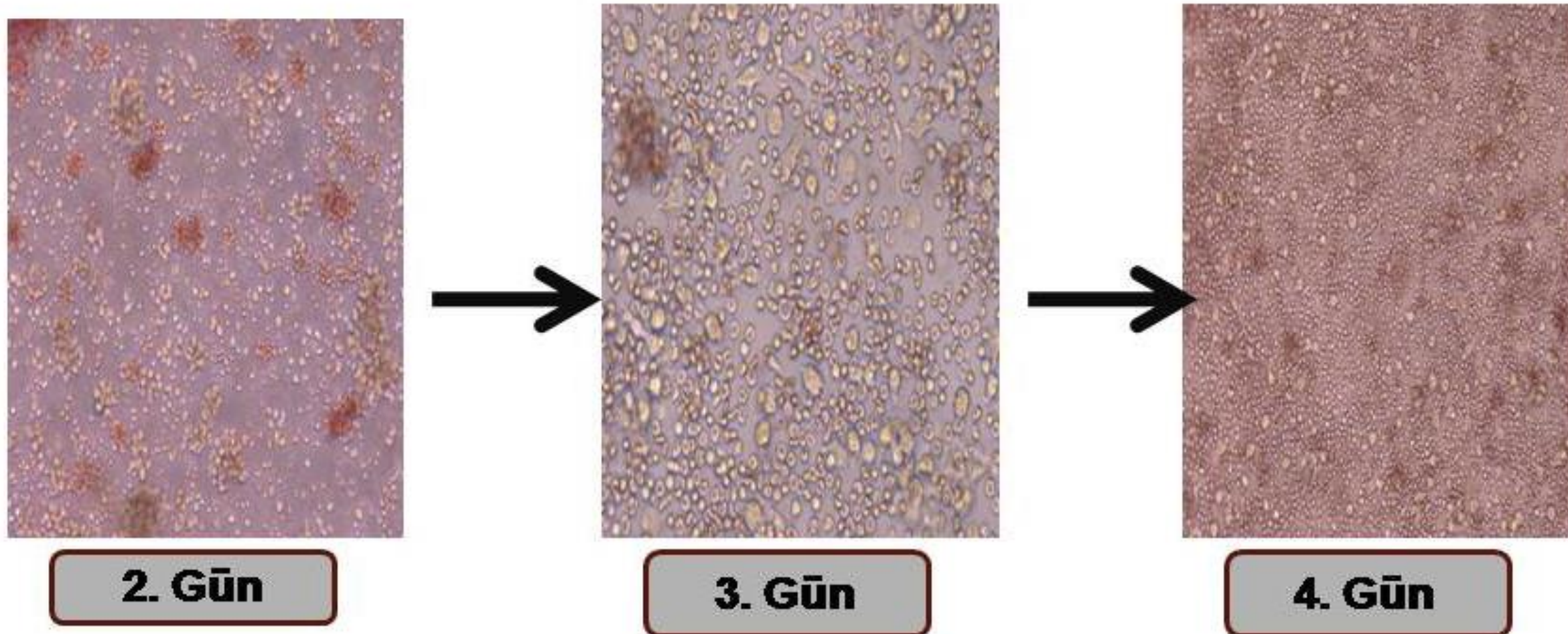
Malin plazma hücrelerini ortadan kaldırılması için miyeloma spesifik immun cevabı sağlayacak tedavi ve günümüzde yeni yeni geliştirilen, maliyetli ancak uygulanabilir alternatif bir yöntem olan tümör aşısı üretimi için gereken hücrelerin elde edilmeye çalışıldı. Böylece antijen sunan hücre olan dendritik hücreye, miyelom hücrelerinin antijenik yapıları tanıtılarak tümör spesifik lenfositlerin oluşturulması hedeflenmiştir.

Yöntem:

Tümör lizati ile otolog nakil olacak multipl miyelom hastadan toplanan kök hücre ve mononükleer hücrelerden alınan numune kültür işlemi için birleştirildi. 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 analizlerin yapılacağı günlere kadar bekletildi. Daha sonra akım sitometri laboratuvarında 2, 3 ve 4'üncü günlerde ekim ürününden alınan numunedeki hücrelerin uygun yüzey markerları aracılığıyla tanımlanması ve ayrıca bu hücrelerin ne kadarının canlı olduğunu belirlemek için Annexin-V kiti ile testler yapıldı.

Bulgular:

Kontor grubundan ve kültürün 2, 3 ve 4. günlerden alınan numunelerde bulunan kök hücre ve mononükleer hücrelerin akım sitometri cihazı ile belirlenen antikörlerin değişimleri gözlenerek bu hücrelerin dendritik hücreye dönüşümünün olup olmadığı tespit edildi ve Annexin-V kiti ile kontrolleri sağlandı.



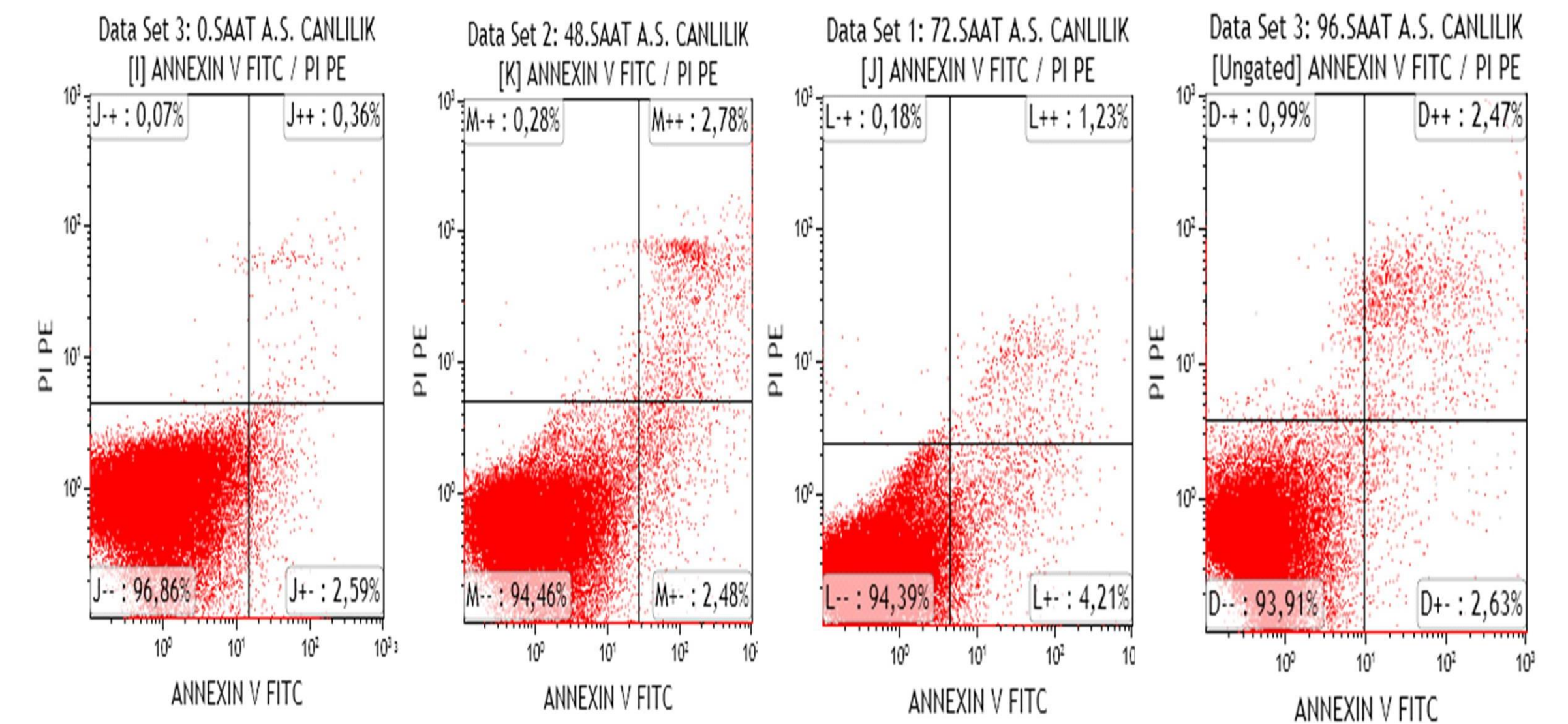
Şekil 1. Uygulamanın kültür sonrası inverted mikroskop görüntüleri

Tablo 1. Kültür öncesi ve kültür sonrası antikörlerin ekspresyon düzeyleri

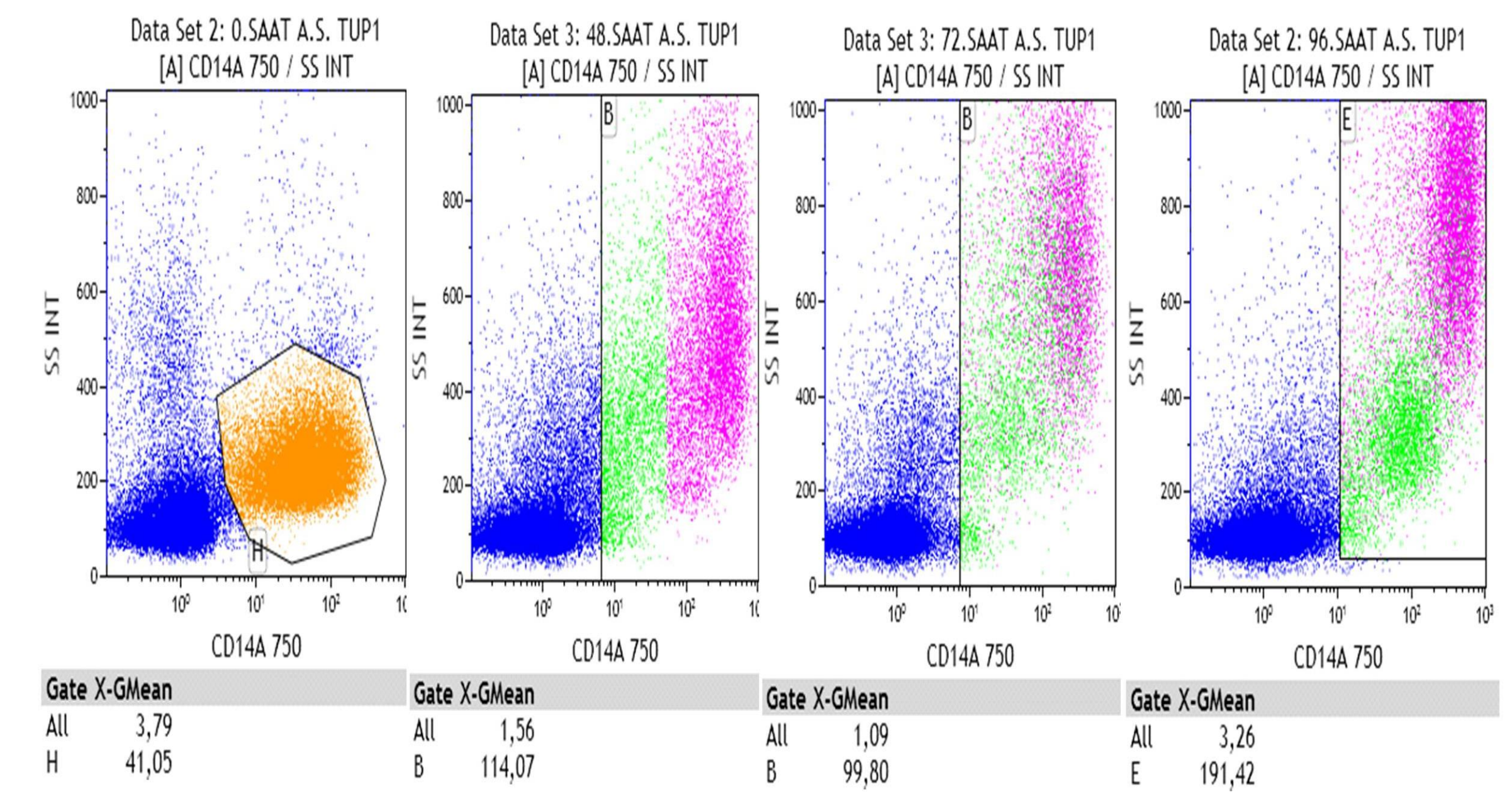
YÜZEY MARKERİ	KÜLTÜR GÜNLERİ	KONTROL GRUBU	2. GÜN	3. GÜN	4. GÜN
CD14		40,06	80,70	77,72	220,57
CD34		0,14	0,21	0,16	0,25
CD45		16,85	49,02	51,74	57,53
CD80		0,32	4,65 (14,5 kat artış)	4,72 (14,75 kat artış)	9,95 (31,1 kat artış)
CD83		0,48	5,68 (11,9 kat artış)	3,10 (6,5 kat artış)	6,02 (12,5 kat artış)
CD86		1,14	7,31 (6,4 kat artış)	10,74 (9,4 kat artış)	15,43 (13,5 kat artış)
CD209		2,70	47,65	92,38	89,32
HLA-DR		0,37	6,96 (18,8 kat artış)	13,52 (36,5 kat artış)	13,26 (35,9 kat artış)

Sonuç:

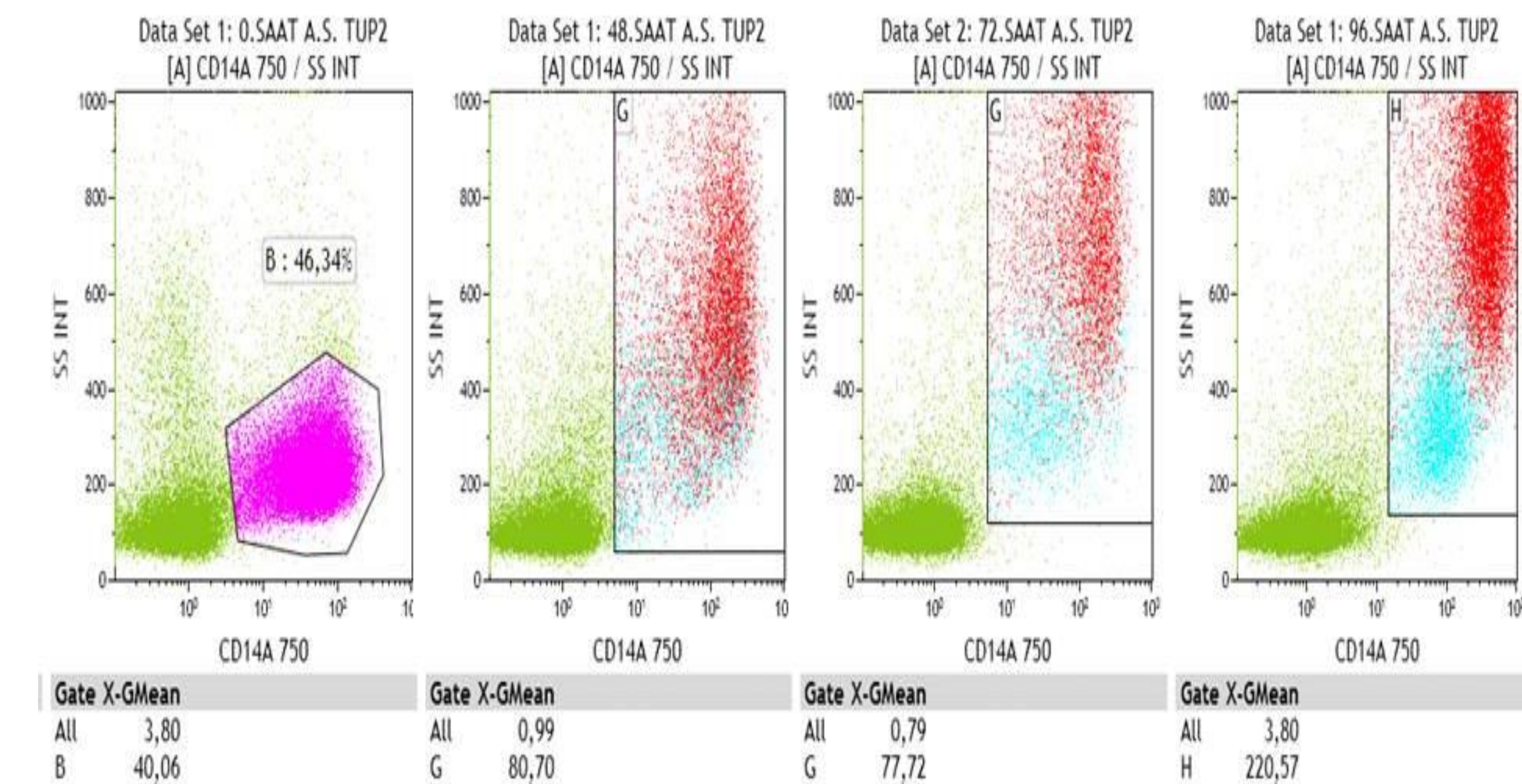
IL-4+GM-CSF sitokin kombinasyonunun kültür ortamına eklenmesi ve in-vitro kültür ortamı için 37°C sıcaklığa, %5 CO₂'li ve nemli bir ortama sahip inkübatör kullanılması dendritik hücre matürasyon gelişimini olumlu etkilediği tespit edildi. Elde edilen en önemli sonuç ise multiple miyelom hastalarına uygulanabilir bir dendritik hücre bazlı otolog tümör aşısı eldesi için ilk basamakta gerekli olan dendritik hücre üretimi sağlandı.



Şekil 2. Uygulamanın kültür öncesi ve kültür sonrası viabilite ve apoptoz yüzdeleri



Şekil 3. Uygulamanın kültür öncesi ve kültür sonrası akım sitometrik analiz



Şekil 4. Uygulamanın kültür öncesi ve kültür sonrası akım sitometrik analiz