

Kök hücre mobilizasyonunda problemliler:
Ne yaptık? Ne yapılabilir?

Dr. Gülsün Karasu

Mobilizasyon:

Periferal kandaki kök hücre içeriğini artırmak için kullanılan metot

Periferik Kan Kök Hücre (PKKH)

1971

HSP hücrelerin
periferik kanda
gösterilmesi



Cells Capable of Colony Formation in the Peripheral Blood of Man

Abstract. Colony-forming cells have been found in the peripheral blood of man and have been grown in vitro by use of a soft agar gel technique. It has been possible to collect these cells with a blood-cell separator in numbers similar to those found in the peripheral circulation. Repeat leukapheresis of the same donor does not reduce the number of circulating colony-forming cells.

In conclusion, CFC have been demonstrated in the peripheral blood in a concentration of approximately 1 per 10,000 nucleated cells.

Kemoterapi sonrası 5-15 kat (Richman et al, Blood 1976)

Kemoterapi + büyüme faktörleri %6 (Weaver et al, Transfusion 1997)



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Transfusion and Apheresis Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/transoi



Original article

Factors associated with peripheral blood stem cell yield in healthy pediatric donors

Gülsün Karasu*, Vedat Uygun, Akif Yesilipek

Medicalpark Antalya Hospital, Pediatric Stem Cell Transplantation Unit, Antalya, Turkey

1999-2009

100 sağlıklı verici, 140 aferez

GCSF 5µgr/kg/gün

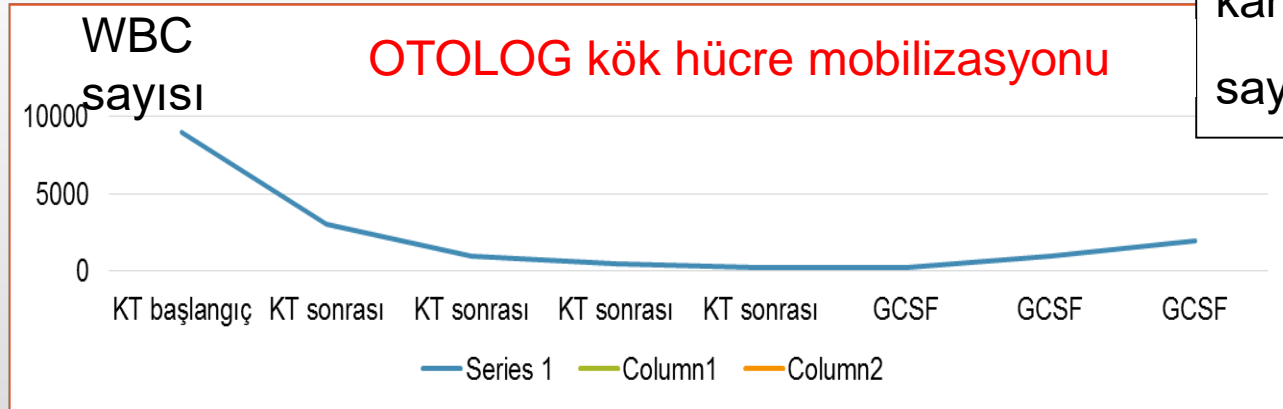
Vericilerin %60'ında 1 aferez ile hedef hücreye ulaşıldı

Mobilizasyon: Kemomobilizasyon

HASTA (OTOLOG)

Kemoterapi +G-CSF

Periferik
kan CD34
sayımı



- ✓ Kombine kemoterapi
- ✓ Siklofosfamid

Optimal mobilizasyon

- ✓Yeterli hücre sayısı sağlamalı
- ✓Kalıcı engrafmanı kısa sürede sağlamalı
- ✓Toksisitesi az olmalı

Yeterli hücre sayısı?

Toplam CD34+ hücre sayısı/alıcı VA

- En güvenilir
 - En pratik
- } yöntem

CD 34+ hücre sayısı

$1-2 \times 10^6$ CD34+ hücre/alıcı VA?

Hastanın klinik durumuna göre karar verilmeli
Engrafman sorunu?

Negrin RS, et al. Transplantation of enriched and purged peripheral blood progenitor cells from a single apheresis product in patients with **non-Hodgkin's lymphoma**. Blood. 1995.

Tricot G, et al. Peripheral blood stem cell transplants for **multiple myeloma**: identification of favorable variables for rapid engraftment in 225 patients. Blood. 1995.

İdeal CD 34+ hücre sayısı?

Yüksek hücre sayısı



Hızlı engrafman

Yüksek hücre sayısı



Artmış aferez sayısı

3-5 x10⁶ /alıcı VA CD34 + hücre



- MSD

4 - 5 x 10⁶ CD34+ hücre/kg

- Haploidentik transplantasyon

10 - 20 x 10⁶ CD34+ hücre/kg

Mobilizasyon başarısızlığı: İnsidans: % 5-%40

- Olası (predicted) mobilizasyon başarısızlığı

- *Risk faktörleri varlığı*



- "Preemptive" mobilizasyon başarısızlığı



- *Aferez öncesi periferik kan CD34+ hücre sayısı*

- Kesin (proven) mobilizasyon başarısızlığı

- *Kök hücre ürünü CD 34 + hücre sayısı*

Yeterli mobilizasyon sonrası:

GCSF 10 µgr/kg 6 gün veya KT sonrası 5 µgr/kg 20 gün

Perseghin et al
(2009)

PK CD34+ <20 hücre/µL olması

Aferezde 2×10^6 /kg CD34 (+) sayısına ulaşamaması

Wuchter et al
(2010)

Sınırdan PM: PK CD34+ sayısı: 11-19 hücre/µL

Rölatif PM: PK CD34+ sayısı: 6- 10 hücre/µL

Kesin: PK CD34+ sayısı: <5 hücre/µL

Olivieri et al (2012)

PK CD34+ <20 hücre/µL olması

3 ardışık aferezde 2×10^6 /kg CD34 (+) sayısına ulaşamaması

Li et al (2011)

WBC > 10×10^9 /L iken PK CD34+ <15 hücre/µL

Lacativa et al
(2012)

3 ardışık aferezde 2×10^6 /kg CD34 (+) sayısına ulaşamaması

Cesaro et al (2013)

3 ardışık aferezde 2×10^6 /kg CD34 (+) sayısına ulaşamaması

Mobilizasyon başarısızlığı



OLASI (predicted) PM

Olivieri et al (2012) Önceki aferezde başarısızlık

Yaygın RT veya PKKH mobilizasyonunu etkileyecek KT

İki kriter varlığı

- İleri evre hastalık
- Refrakter hastalık
- Yaygın Kİ tutulumu veya Kİ selülerite<%30,
- 65 yaş üstü olma

- 14 yaş, erkek
- Haziran 2017:Boyunda şişlik, ateş, gece terlemesi, kilo kaybı
- Hodgkin lenfoma, NS

Servikal bölgede multiple

Bilateral AC parankim **Evre IV B**

Pankreas başı ve mezenterik alanda tutulum

- 2 kür OEPA sonrası kısmi yanıt
- 2 kür COPP sonrası kısmi yanıt
- 4 kür COPP sonrası progresyon (6 kür KT)
- Sol boyun ve mediasten RT

1. kür ICE+Brentixumab kısmi metabolik yanıt

2. kür ICE+Brentixumab sonrası

Nötropenik dönemde ateş+ (2 gün süren), 3 gündür ateşsiz

Kan kültür: henüz üreme yok

WBC: 1260/mm³ ANS 360/mm³ Plt:29.000

- G-CSF 6. gün WBC: 4730/mm³ ANS: 2390/mm³
- Periferik kan CD34+ hücre sayısı: 5.1 hücre/mikrolitre

Aferez yapalım mı?

Olası PM Risk faktörleri

Hastalık ilişkili

- Kİ tutulumu
 - Sağlıklı niş yapısının bozulması sonucu HKH sayısının azlığı
 - HKH ve malign hücrelerin sınırlı sayıdaki niş için yarışması
- NHL, indolan lenfoproliferatif hastalık, akut lösemi
 - Paraneoplastik niş işlev bozukluğu
 - Niş infiltrasyonu

Olası PM Risk faktörleri: Önceki tedaviler

Kemoterapi:

Hücre S fazı dışındaki hücreleri de etkileyen ilaçlar doğrudan HKH toksisitesine neden olur

Karmustin, Cisplatin, antrasiklin, Melfelan, Fludarabin (+ niş toksisitesi)

Yoğun kemoterapi (hiper-CVAD): Niş hasarı, hücre siklusuna girmeye zorlanan HKH'lerin kendini yenileme ve yapılanma potansiyelleri tükenebilir

Lenalidomide, Thalidomide, Bortezomib

İmatinib: Kemik döngüsü azalır, HKH niş işlevi bozulur

Geniş alan radyoterapi:

HKH, niş ve niş destekleyici hücre toksisitesi

Yoğun kemoterani: Toksisite skoru

Bone Marrow Transplantation (2003) 32, 569–573
© 2003 Nature Publishing Group All rights reserved 0268-3369/03 \$25.00
www.nature.com/bmt



Mobilizasyon başarısızlığını öngörebilen sınır değer belirlenememiş

Is chemotherapy scoring useful to predict progenitor cell mobilisation in patients with non-Hodgkin's lymphoma?

<i>TF</i>	<i>Drug</i>
0	Prednisolone, dexamethasone, METHYLPREDNISOLONE
1	Vincristine, vinblastine, bleomycin, METHOTREXATE, alpha-interferon, CYTOSINE ARABINOSIDE
2	MITOGUAZON, cyclophosphamide, IFOSFAMIDE, cisplatin, anthracyclines, MITOXANTRONE, etoposide
3	Chlorambucil ^a , procarbazine, FLUDARABINE, DACARBAZINE
4	Melphalan, carmustine, metchlorethamine, lomustine

Brentuximab?

BV before high-dose chemotherapy-ASCT did not adversely affect peripheral blood stem cell mobilization and subsequent engraftment in a cohort of heavily pretreated patients with CD30(+) lymphomas.

Chen R, et al. Results of a Multicenter Phase II Trial of Brentuximab Vedotin as Second-Line Therapy before Autologous Transplantation in Relapsed/Refractory Hodgkin Lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015

Afable M, et al. Hematopoietic Progenitor Cell Harvesting Is Feasible after Treatment with Brentuximab Vedotin in CD30(+) Lymphoma Patients Who Received Multiple Prior Lines of Treatment. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015

Olası PM Risk faktörleri

Yaş > 60 yaş

Kİ rezervi azalır

- HKH yaşlanması (telemor kısalması)
- HKH niş kaybı veya işlev bozukluğu
- Kemik kaybı ve kemik metabolizma değişiklikleri



Azalmış osteoblast sayısı



Azalmış osteoblastik niş

Olası PM Risk faktörleri

- Trombosit düşüklüğü(<100, <150 x10⁹/L)
 - Periferik kan CD 34+ düşüklüğü
 - TNF- α düşüklüğü (GCSF'e makrofaj yanıtı azlığı)
- Kİ rezervi
- Diyabet
 - Sigara kullanımı

Sağlıklı vericilerin %5'inde mobilizasyon başarısızlığı

“Konstitusyonel mobilizasyon başarısızlığı”

- HKH kalitatif ve kantitatif farklılıkları
- HKH migrasyon farklılıkları
- GCSF yanıtı olarak niş down-regulasyon farklılıkları
- Genetik polimorfizmler: GCSFR, adezyon molekülleri (VCAM-1 CD44) kemokin (SDF-1)

CD34 mobilizasyon etkinliğini arttıran faktörler: Allo-vericiler

- Erkek cinsiyet
- Genç yaş
- Yüksek vücut kitle indeksi
- Yüksek G-CSF dozu
- Mobilizasyon öncesi WBC yüksek değeri



Bertani G, et al. Identification of hematopoietic progenitor cell donor characteristics predicting successful mobilization: results of an Italian multicenter study. Transfusion. 2014 ;54(8):2028-33.

Chen J, et al. Donor body mass index is an important factor that affects peripheral blood progenitor cell yield in healthy donors after mobilization with granulocyte-colony-stimulating factor. Transfusion. 2014;54(1):203-10

Optimal mobilizasyon yaklaşımları

Allojenik verici

- Genç yaş, erkek,

Otolog verici

Erken kök hücre toplanması

PM risk faktörü	Yaklaşım
Yoğun kemoterapi	Tedavi öncesi toplama
Fludarabin	Tedavi öncesi toplama (>150 mg/m ²)
İmatinib	Mobilizasyondan 3 hafta önce kesme
Lenalidomide	Mobilizasyondan 3 hafta önce kesme 2.-4. siklus arası >4 siklus Tek GCSF kullanılmamalı
Ki tutulum	Ki remisyonunun sağlanması
Yaygın radyoterapi	"Rainy day HCS harvesting"
Bazal trombositopeni	Daha yoğun mobilizasyon rejimleri

G-CSF 6. gün WBC: 4730/mm³ ANS: 2390/mm³

Periferik kan CD34+ hücre sayısı: 5.1 hücre/mikrolitre

Aferez yapalım mı?

CD34+ hücre sayısı: 0.7 X10⁶/ kg

MNC: 2.4 X10⁸/ kg

Wuchter et al
(2010)

Sınırdaki

Rölatif

Kesin:

CD34

2.3 X10⁶/ kg

MNC:

4.3 X10⁸/ kg

Li et al (2011)

WBC>10x10⁹/L iken PK CD34+ <15 hücre/μL

+12 PNL engrafmanı, +22 PLT engrafmanı

Mobilizasyon başarısızlığında yaklaşım

- Remobilizasyon
- Geniş hacimli aferez
- Plerixafor
- Kemomobilizasyon+GCSF+Plerixafor
- Kemik iliği toplama

Remobilizasyon

GCSF 5-16 mgr/kg 1. mobilizasyon %38 başarısızlık

- GCSF remobilizasyon %81 başarısızlık
- KM+GCSF %73 başarısızlık
- GCSF+plerixifor %27 başarısızlık

Pusic I, et al. Impact of mobilization and remobilization strategies on achieving sufficient stem cell yields for autologous transplantation. Biol Blood Marrow Transplant 2008;14:1045–56.

GCSF yüksek doz veya kombine kullanım?

- Yüksek doz (16-32 µg/kg/gün) CD34 hücre kazanımını
- Tek sitokin ile remobilizasyon önerilmez
- KM eğer sitotoksik tedavi alacaksa denenebilir ancak %74 başarısızlık (toksisite, maliyet)
- 40 µg/kg/gün ?

Artmış toksisite, düşük maliyet-etkinlik

Weaver CH, et al. Mobilization and harvesting of peripheral blood stem cells: randomized evaluations of different doses of filgrastim. *Br J Haematol.* 1998.

Sheridan WP, et al. Phase II study of autologous filgrastim (G-CSF)-mobilized peripheral blood progenitor cells to restore hemopoiesis after high-dose chemotherapy for lymphoid malignancies. *Bone Marrow Transplant.* 1994

Geniş hacimli aferez

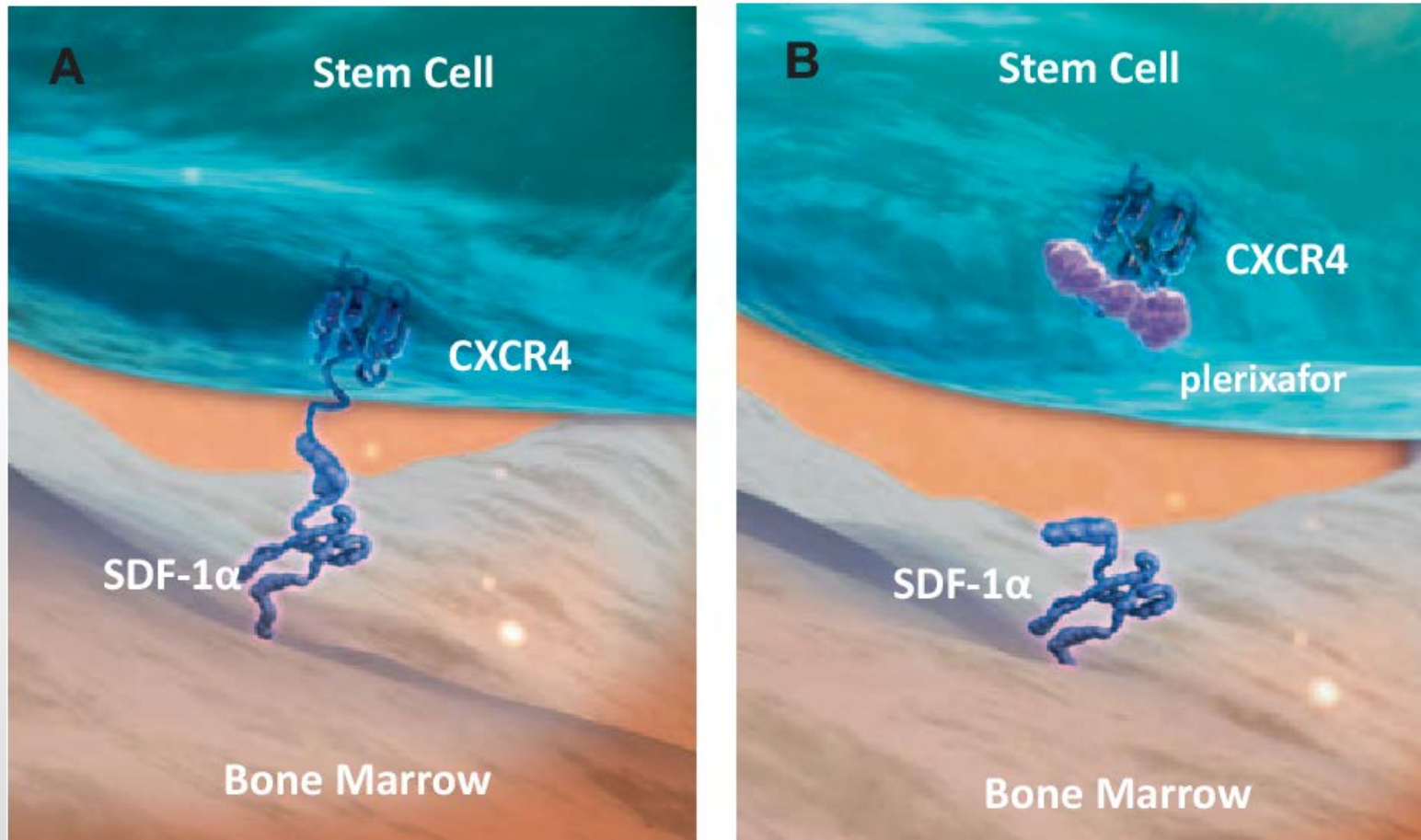
- 15-35 L veya 3-6X kan volumu işlenmesi
- Uzun süreli aferez sırasında mobilize olan hücreler de toplanır.
- Giriş CD34+ hücre sayısı < 20 hücre/ μ L olanlarda %40-100 daha yüksek CD34+ kazanımı^{1,2}
- Aferez 4. günden sonra da devam ettirildiyse işlenen hacimden bağımsız olarak mobilizasyon başarısız

Hipokalsemi, hipomagnezemi
Trombositopeni

1. Gasová, et al. PBPC collection techniques: standard versus large-volume leukapheresis (LVL) in donors and in patients. *Transfus Apher Sci* 2005.

2. Cassens U, et al. Factors affecting the efficacy of peripheral blood progenitor cells collections by large-volume leukaphereses with standardized processing volumes. *Transfusion* 2004.

Plerixafor: GCSF ile sinerjistik



Mozobil (plerixafor injection) Administration

Day	1	2	3	4	5	6	7	8
G-CSF (10 micrograms/kg)	✓	✓	✓	✓	✓	✓ ^a	✓ ^a	✓ ^a
Mozobil (0.24 mg/kg)				✓	✓ ^a	✓ ^a	✓ ^a	
Apheresis					✓	✓ ^a	✓ ^a	✓ ^a

- Administer G-CSF (10 micrograms/kg) each morning for 4 days prior to first evening dose of Mozobil and each morning of apheresis
- Administer Mozobil (0.24 mg/kg) approximately 11 hours prior to initiation of each apheresis
 - Mozobil can be administered for up to 4 consecutive days

G-CSF granulocyte-colony stimulating factor

^aIf required.

Mozobil (prescribing information) Cambridge, MA Genzyme Corp. 2010



✓ PM hastaların %70 'inde başarı 😊

✓ Maliyet 😞 15.948 TL

Risk bazlı algoritma:

- Suboptimal mobilizasyonda kurtarma tedavisi(düşük PK CD34+hücre sayısı)

Micallef et al.

- PK CD34+ hücre sayısı 4. günde <10 hücre/ μ L (tek tx) veya <20 hücre/ μ L (çoklu tx)
- İlk aferez sonrası CD34+ kazanımı $<1.5 \times 10^6/\text{kg}$ veya ardışık günlerde CD34+ kazanımı $<0.5 \times 10^6/\text{kg}$

Micallef IN, et al. Cost-effectiveness analysis of a risk-adapted algorithm of plerixafor use for autologous peripheral blood stem cell mobilization. Biol Blood Marrow Transplant. 2013.

EBMT

- PK CD34+ hücre sayısı 4. günde <10 hücre/ μ L
- İlk aferez sonrası CD34+ kazanımı hedef hücrenin $1/3$ ' ünden az ise

Mohty M, et al. Autologous haematopoietic stem cell mobilisation in multiple myeloma and lymphoma patients: a position statement from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Bone Marrow Transplant. 2014;49(7):865–872.

GCSF+P vs KM+GCSF (ilk basamak)

- Birebir karşılaştırma verisi yok

Retrospektif çalışma

- CY 3–5 g/m² + G-CSF vs Plerixafor + G-CSF
- CD34+ hücre kazanımı ve otolog nakil sonrası engrafman kinetiği açısından fark yok
- Median maliyet benzer
- GCSF+P kolunda hastanede kalım süresi, transfüzyon sayısı, GCSF kullanımı daha az

Shaughnessy P, et al. Cost and clinical analysis of autologous hematopoietic stem cell mobilization with G-CSF and plerixafor compared to G-CSF and cyclophosphamide. Biol Blood Marrow Transplant. 2011;17(5):729–736.

Mozobil endikasyonları

- En az bir kez granülosit (vücuttaki beyaz kan hücrelerini oluşturan hücre tiplerinden biri) koloni uyarıcı faktör (G-CSF) ve sonrasında en az bir kez granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) ve kemoterapi uygulanmasına rağmen yeterli kök hücrenin kan akışına saliverilmesi sağlanamaması durumunda,
- Sadece granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) ile yeterli kök hücrenin kan akışına saliverilmesinin sağlanamayacağı öngörülen durumlarda en az bir kez granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) ve kemoterapi uygulanmasına rağmen yeterli kök hücrenin kan akışına saliverilmesi sağlanamaması durumunda
- Çocuklarda kullanımı: Çocuklarda kullanımı ile ilgili deneyim sınırlıdır.MOZOBİL'in 18 yaşından küçük çocuklardaki güvenliliği ve etkililiği ispatlanmamıştır.

Kemomobilizasyon+GCSF+Plerixafor

- Mobilizasyon başarısızlığı veya
- İleri evre hastalık, yaygın RT, uzun süreli HKH toksik

Median PK CD34+ hücre sayısında 4 kat artış
(5 cells/mL, range: 1–32 vs 32 cells/mL, range: 6–201).

Başarılı toplama oranı 73%.

Dugan MJ, et al. Safety and preliminary efficacy of plerixafor (Mozobil) in combination with chemotherapy and G-CSF: an open-label, multicenter, exploratory trial in patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma undergoing stem cell mobilization. Bone Marrow Transplant. 2010.

Attolico I, et al. Plerixafor added to chemotherapy plus G-CSF is safe and allows adequate PBSC collection in predicted poor mobilizer patients with multiple myeloma or lymphoma. Biol Blood Marrow Transplant. 2012.

Kemik iliği toplama

- Sıklıkla kullanıldı

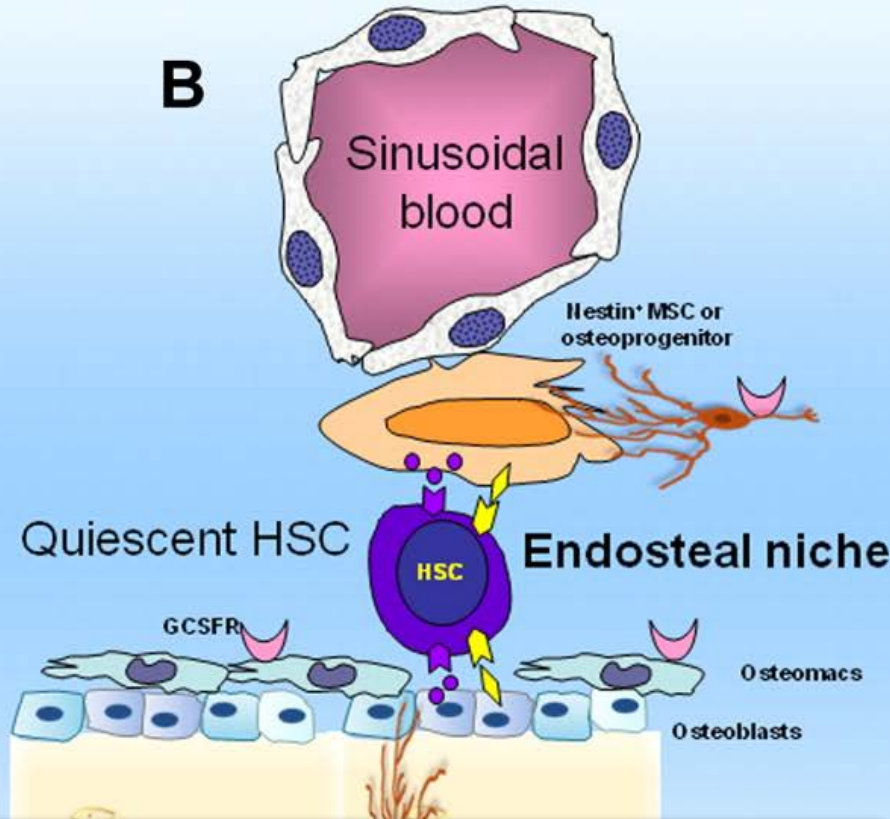
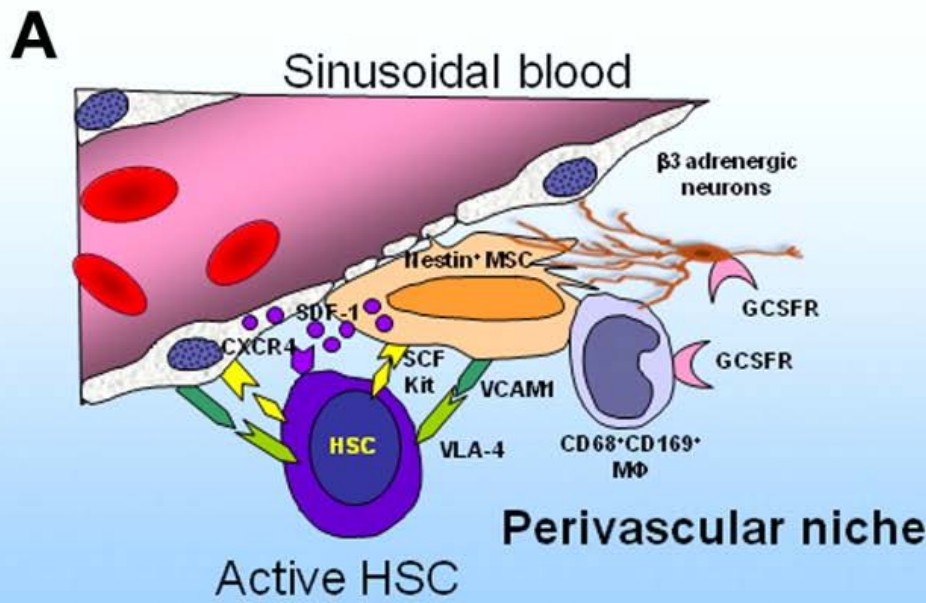
Yeni ajanlara yanıtızsız

Yeni ajanlara ulaşılamayan

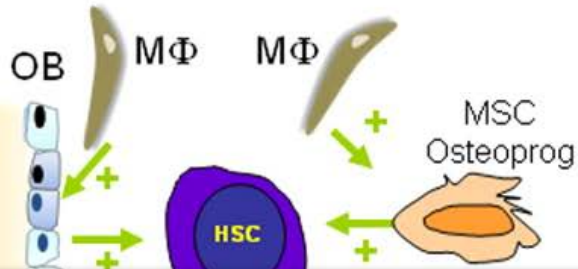
Aferez kontraendikasyonu bulunan olgularda

Sonuç olarak;

- Mobilizasyon mekanizması hakkında keşfedilenler mobilizasyon başarısızlığının önlenmesi ve yönetimi açısından bize yeni yaklaşımlar sağlamıştır.
- Kök hücre ve niş hasarı gelişmeden, iyi zamanlı bir mobilizasyon, önemlidir.
- Plerixafor suboptimal mobilizasyonda kurtarma veya remobilizasyonda kullanılabilir.
- Çalışmaları devam eden yeni ajanlar mobilizasyon başarısı açısından umut olabilir.



C



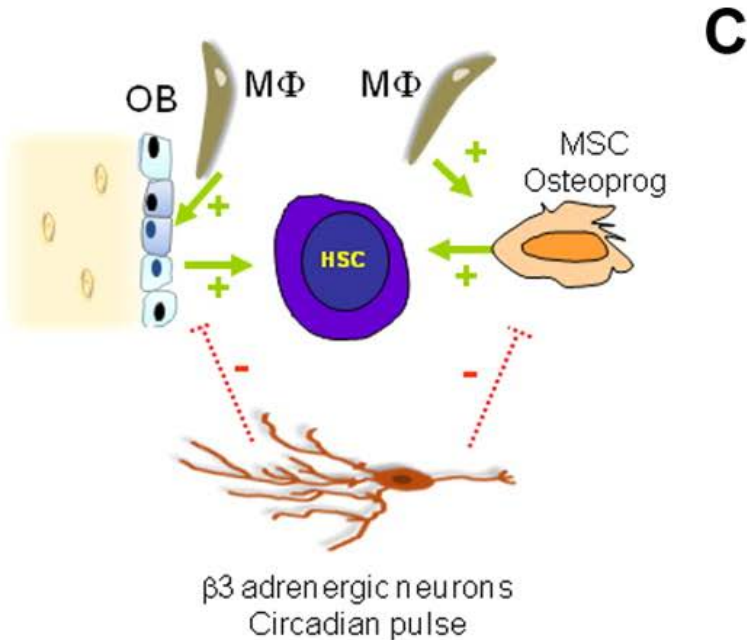
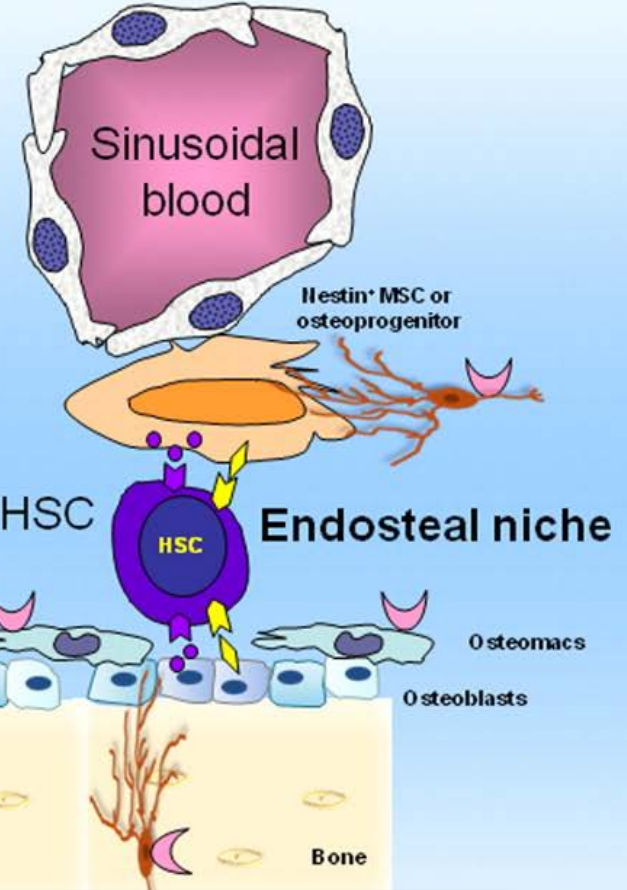
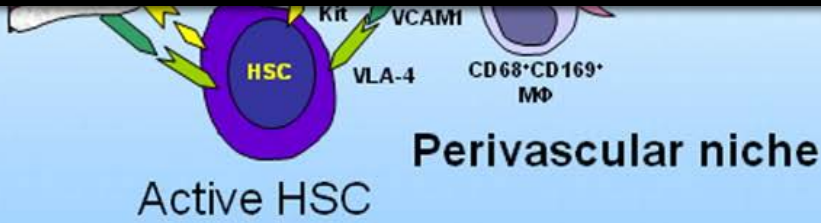
Aktif HKH; hematopoetik sistem rejenerasyonu

Perivaskuler MKH ve sinuzoidal endotel hücreleri ile etkileşim halinde

SDF-1, SCF, VCAM-1 (MKH ve sinus endotel hücreleri tarafından eksprese edilen) HKH'leri nişte tutar.

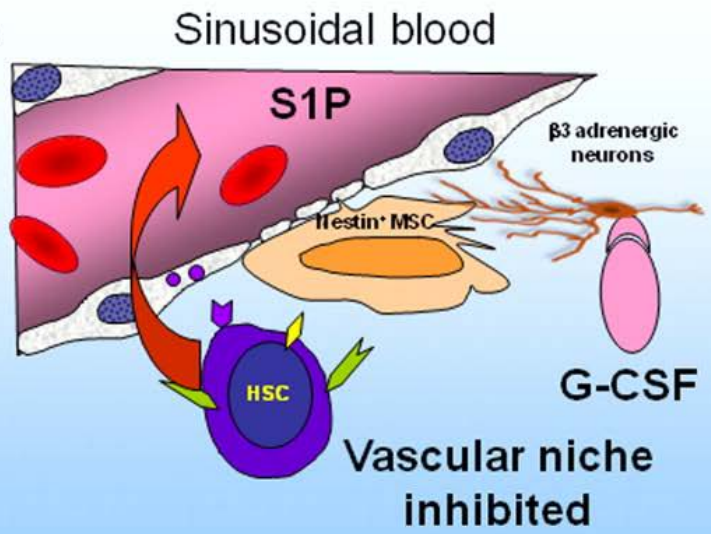
Durgun HKH endosteal nişte yer alır

Durgun HKH MKH ve/veya osteoprogenitör hücrelerle etkileşim halinde



β adrenergik sempatik uyarı MKH ve osteoblastlardan SDF-1 sekresyonunu engeller

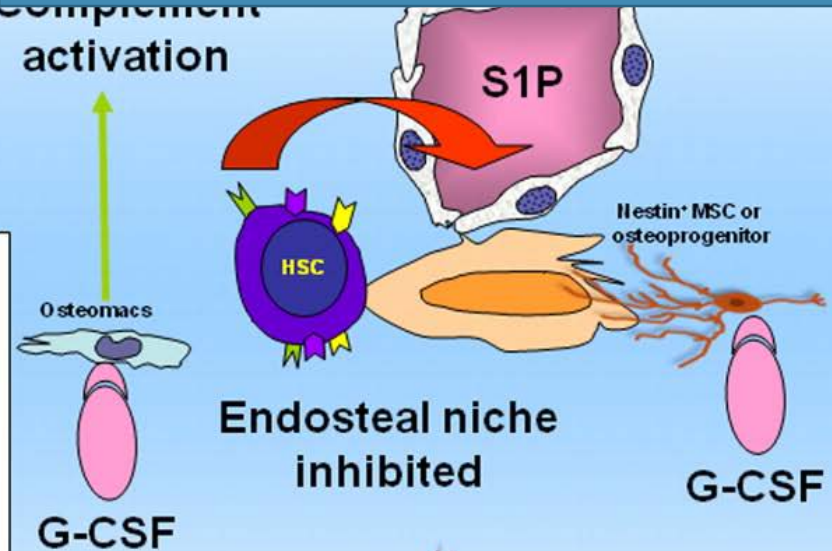
A



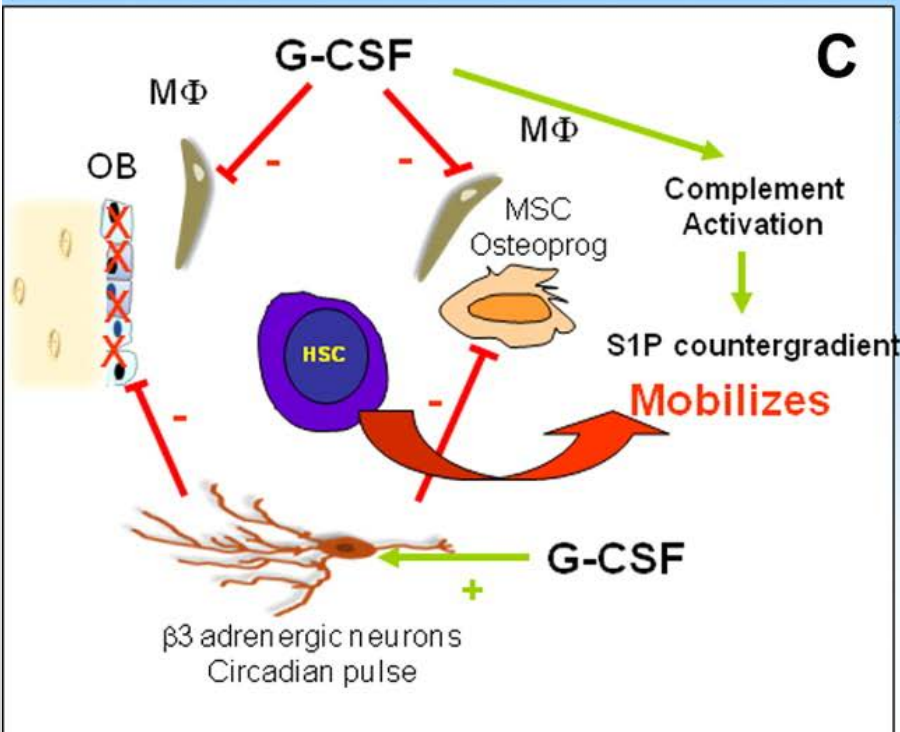
cd

- G-CSF perivasküler nişteki makrofajları aktive eder
- Bu etki makrofajların MKH'lere desteğini azaltır
- CXCL2, SCF, VCAM-1 ekspresyonunda down-regülasyon

Complement activation



C



Bone formation stops

