

respons wordt opgewekt tegen humaan MPO d.m.v. immunisatie en één nier van deze ratten vervolgens geperfundeed wordt met de produkten van geactiveerde granulocyten, nl. lytische enzymen, MPO en H₂O₂, ontstaan in de geperfundeerde nier van deze ratten histologische afwijkingen die identiek zijn aan de afwijkingen die bij patiënten met anti-MPO antistoffen in de nieren worden gezien. Deze experimenten hebben het inzicht in de ontstaanswijze van de ziekteverschijnselen bij patiënten met vasculitis in associatie met ANCA vergroot. Het lijkt dat er een tweetal factoren nodig zijn: enerzijds de autoimmunrespons, anderzijds een externe prikkel, bv. een infectie, die tot "priming" van granulocyten aanleiding geeft. Wat dit laatste betreft, is het opvallend dat die patiënten met de ziekte van Wegener die in de loop van de tijd exacerbaties van hun ziekte ontwikkelden, vrijwel steeds drager van *Staphylococcus aureus* bleken te zijn.

Conclusie

ANCA gericht tegen proteïnase 3 en myeloperoxidase zijn waardevolle hulpmiddelen bij de diagnostiek en

follow-up van vasculitiden. In vitro en in vivo gegevens doen vermoeden dat de antistoffen een rol spelen bij het ontstaan van de ziekteverschijnselen (voor andere overzichtsartikelen zie ref. 2-4).

Literatuur

1. Woude FJ van der, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, Es LA van, Giessen M van der, Hem GK van der, The TH: Autoantibodies to neutrophils and monocytes: a new tool for diagnosis and a marker of disease activity in Wegener's Granulomatosis. *Lancet* 1985; ii: 425-429.
2. Kallenberg CGM, Cohen Tervaert JW, Woude FJ van der, Goldschmeding R, Borne AEGKr von dem, Weening JJ. Autoimmunity to lysosomal enzymes: new clues to vasculitis and glomerulonephritis? *Immunol Today* 1991; 12: 61-64.
3. Kallenberg CGM, Mulder AHL, Cohen Tervaert JW. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies: a still growing class of autoantibodies in inflammatory disorders. *Am J Med* 1992; 93: 675-682.
4. Kallenberg CGM, Brouwer E, Weening JJ, Cohen Tervaert JW. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies: current diagnostic and pathophysiological potential. *Kidney Int* 1994; 46: 1-15.

Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 89-91

De toepassing van hematopoïetische groeifactoren bij de neutropenische patiënt

E. VELLENGA

In de afgelopen jaren is veel informatie verkregen over de werking van de verschillende hematopoïetische hormonen die betrokken zijn bij de proliferatie en differentiatie van hematopoïetische cellen in beenmerg en perifeer bloed. Onder de hematopoïetische hormonen worden zowel cytokines, lymfokines als koloniestimulerende factoren verstaan die op een subtiele manier zorgdragen voor de stimulatie alswel remming van verschillende hematopoïetische cellen. De belangrijkste die momenteel in de kliniek worden toegepast zijn: granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) en granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF). Hoewel G-CSF en GM-CSF in de kliniek uitwisselbaar zijn omtrent hun toepasbaarheid zijn er fysiologisch gezien grote verschillen in aanmaak en werking.

G-CSF

G-CSF wordt door verschillende hematopoïetische cellen gemaakt zoals monocytten, endotheelcellen en fibroblasten (1-4). Deze celtypen maken G-CSF; niet spontaan maar uitsluitend na blootstelling aan een activatiesignaal waaronder endotoxine en IL-1. Na stimulatie komt de eiwitproductie binnen 12 tot 24

uur op gang. De werking van G-CSF is beperkt tot de granulocytaire reeks en stimuleert zowel de proliferatie van de granulocytaire voorlopercel als de functionele activiteit van de uitgerijpte granulocyt. Dit komt o.a. tot uiting in de toegenomen zuurstof radicaal vorming en in de verandering van adhesie moleculen.

GM-CSF

GM-CSF wordt evenals G-CSF door meerdere hematopoïetische cellen gemaakt (1-4). Endotheelcellen, fibroblasten, T-cellen en monocytten kunnen onder verschillende condities deze groeifactor tot expressie brengen. Endotoxine en IL-1 stimuleren endotheelcellen en fibroblasten tot de produktie van GM-CSF terwijl activatie van het T-cel receptor complex eveneens leidt tot GM-CSF produktie. De werking van GM-CSF is breder als die van G-CSF en omvat zowel de granulocytaire, de monocyttaire als de eosinofiele reeks. De werking van de groeifactor strekt zich uit van de vroege hematopoïetische stamcel tot de uitgerijpte cel. De werking op uitgerijpte hematopoïetische cellen omvat met name activatie van een aantal cellulair processen, zoals superoxide produktie, expressie van de adhesieve antigenen en produktie van verschillende cytokines.

Beide factoren zijn in de afgelopen periode uitvoerig gebruikt als ondersteunende behandeling bij patienten met een hemato-oncologische maligniteit. De toediening van deze factoren heeft tot doel de periode van

Afdeling Hematologie, Academisch ziekenhuis Groningen

Correspondentie: Dr. E. Vellenga, Afdeling Hematologie AZG, Oostersingel 59, 9713 EZ Groningen.

granulocytopenie te verkorten waardoor er een verminderde incidentie optreedt van infectieuze complicaties en een intensievere vorm van chemotherapie gegeven kan worden. Voorlopige resultaten tonen aan dat dit mogelijk bereikt kan worden bij sommige tumor typen die behandeld worden met een intensieve vorm van chemotherapie (5,6). Verder zijn diverse fase III studies verricht binnen de setting van autologe beenmergtransplantatie (7,8). In sommige studies wordt een sneller herstel van de granulocyttaire reeks waargenomen echter zonder een effect op het herstel van de trombocyttaire of erythroïde reeks. Het versneld herstel van de granulocyten vertaalt zich niet duidelijk in een verdere reductie van de infectieuze periodes, verminderd antibiotica gebruik of opname duur.

Een nieuwere ontwikkeling die mogelijk hierbij een belangrijkere rol vervult is de perifere stamcel isolatie en transplantatie.

Stamcel-mobilisatie

Een gemeenschappelijk kenmerk van beide hematopoïetische groeifactoren is het stamcel mobiliserend effect (9). Hieronder wordt verstaan de mobilisatie van de stamcel uit het beenmerg naar het perifere bloed. Dit kan worden aangetoond door het aantal circulerende CD34 positieve (+) cellen te bepalen met behulp van flowcytometrie. CD34 is een membraan antigeen dat aantoonbaar is op zeer onrijpe hematopoïetische cellen die deel uitmaken van het stamcel compartiment. In het beenmerg komen ongeveer 1-2% CD34⁺ cellen voor, terwijl deze in het perifere bloed nauwelijks te detecteren zijn. Onderzoekers uit de jaren tachtig hadden reeds opgemerkt dat tijdens de regeneratiefase na chemotherapie een toegenomen aantal stamcellen aantoonbaar was in het perifere bloed.

Tijdens de toepassing van hematopoïetische groeifactoren is vastgesteld dat dit effect versterkt kan worden door toevoeging van G-CSF/GM-CSF tijdens de regeneratiefase. Het percentage CD34⁺ kan hierbij oplopen tot 4 %. Dit stamcel mobiliserend effect lijkt niet gebonden te zijn aan de toediening van G-CSF of GM-CSF, maar wordt ook waargenomen tijdens de toediening van interleukine-3 en erythropoïetine. De oorzaak van het stamcelmobiliserend effect onder invloed van hematopoïetische groeifactoren is tot heden onduidelijk, maar zal waarschijnlijk veroorzaakt worden door wijzigingen in de opmaak van adhesiemoleculen op de stamcel ofwel veranderingen in het micromilieu.

De mate van mobilisatie door G-CSF/GM-CSF varieert per patiënt en is o.a. afhankelijk van de mate van voorbehandeling met chemo- en radiotherapie. Tevens lijkt de graad van pancytopenie onder invloed van chemotherapie mede van invloed te zijn op het stamcel mobiliserend effect in de aanwezigheid van een hematopoïetische groeifactor. Na een behandeling met 0,5 gr cyclofosfamide/m² worden minder stamcellen gemobiliseerd dan na 1,5 gr cyclofosfamide/m². Gedurende de afgelopen 2 jaar is er veel onderzoek gedaan naar de eigenschappen van deze

CD34⁺ cellen in het perifere bloed, vooral in hoeverre deze cellen verschillen van de CD34⁺ cellen in het beenmerg. Uit deze onderzoeken is naar voren gekomen dat er geen overtuigende verschillen aan te tonen zijn tussen beide celtypen en dat de CD34⁺ cel uit het perifere bloed de potentie heeft zich te gedragen als een stamcel. Dit heeft ertoe geleid dat CD34⁺ cellen uit het perifere bloed nu gebruikt worden voor autologe stamcel transplantatie. Door middel van een leucoferese kunnen grote hoeveelheden perifere bloedcellen waaronder CD34⁺ geïsoleerd en ingevroren worden en vervolgens gebruikt worden na een myeloablatieve chemotherapie (10). Om een optimaal herstel van de perifere bloedwaarden na een myeloablatieve chemotherapie te verkrijgen dienen meer dan 3.10⁶ CD34⁺/kg toegediend te worden aan de patiënt. Voorlopige resultaten van transplantaties met perifere stamcellen wijzen op een aantal voordelen t.o.v. een transplantatie met autoloog beenmerg (11). Er vindt een sneller herstel plaats van de granulocyttaire en trombocyttaire reeks. Dit kan leiden tot een verminderde incidentie aan hemorrhagische en infectieuze complicaties en mogelijk tot verkorting van de ziekenhuis opname duur. Nader onderzoek met grotere groepen patiënten zal dit verder moeten ondersteunen. Echter het mobiliserend effect beperkt zich niet uitsluitend tot normale hematopoïetische cellen. Maligne cellen van solide of hematopoïetische origine worden eveneens gemobiliseerd uit het beenmerg naar het perifere bloed tijdens de behandeling met een hematopoïetische groeifactor (12). Daarom is het van belang de contaminatie van het beenmerg met tumor cellen zoveel mogelijk te minimaliseren door voorafgaande chemotherapie. Een alternatieve benadering is om de CD34⁺ cellen te selecteren uit de totale celpopulatie met behulp van magnetische bolletjes waaraan het CD34⁺ monoclonaal gekoppeld is. Dit kan leiden tot een 4 log reductie van de tumor contaminatie. Op dit moment vindt onderzoek plaats naar de klinische toepasbaarheid.

Samengevat wijzen deze ontwikkelingen op een duidelijke verschuiving in het gebruik van de groeifactoren bij patiënten met een hemato-oncologische aandoening. Van een stamcelstimulerend effect naar een stamcelmobiliserend effect.

Literatuur

1. Lieschke MB, Burgess AW. Granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *N Engl J Med* 1992; 327: 28-35.
2. Lieschke MB, Burgess AW. Granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *N Engl J Med* 1992; 327: 99-106.
3. Biesma B, Vellenga E, Willemse, Vries EGE de. Effects of hematopoietic growth factors on chemotherapy induced myelosuppression. *Clinical Critical Reviews in Oncology/Hematology* 1992; 13: 107-134.
4. Dokter WHA, Vellenga E. Lymphokine effects on the activation and differentiation of human hematopoietic cells. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 1994 in press.
5. Pettengell R, Gurney H, Radford JA et al. Granulocyte colony-stimulating factor to prevent dose-limiting neutropenia in Non-Hodgkin's Lymphoma: a randomized controlled trial. *Blood* 1992; 6: 1430-1436.