



**FACSCalibur™-VIRTAUSSYTOTOMETRILLA JA  
Sysmex XE-5000™ -SOLUAUTOMAATILLA  
MÄÄRITETTYJEN HEMATOPOEETTISTEN  
KANTASOLUJEN MÄÄRITYSTULOSTEN  
VERTAILU**

Mirva Jokinen  
Helena Määttänen

Opinnäytetyö  
Lokakuu 2010  
Bioanalytiikan koulutusohjelma  
Tampereen ammattikorkeakoulu

## TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu  
Bioanalytiikan koulutusohjelma K07MBIOAN

JOKINEN, MIRVA & MÄÄTTÄNEN, HELENA:  
FACSCalibur™-virtaussytometrillä ja Sysmex XE-5000™ -soluautomaatilla  
määritettyjen hematopoeettisten kantasolujen määritystulosten vertailu

Opinnäytetyö 60 s., liitteet 7 s.  
Lokakuu 2010

---

Kantasolumääriä tarvitaan kantasolusiirroissa kantasolukeräyksen ajoittamiseen. Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksen hematologian laboratoriossa kantasolumääriä käytetään CD34-määritystä FACSCalibur™-virtaussytometrillä. Hematopoeettisia kantasoluja olisi mahdollista määrittää myös Laboratoriokeskuksen Sysmex XE-5000™ -soluautomaatilla, jolla määrittäminen on työvaiheiltaan yksinkertaisempaa ja kustannuksiltaan edullisempaa. Lisäksi määriä olisi mahdollista tehdä myös päivystysaikana. Laboratoriokeskuksessa haluttiin selvittää, voidaanko Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin tulosta hyödyntää kantasolukeräyksen ajoitukseen FACSCalibur™-virtaussytometrin rinnalla. Opinnäytetyön tarkoituksena oli vertailla näiden laitteiden antamia hematopoeettisten kantasolujen määritystuloksia.

Opinnäytetyössä käytettiin empiiristä ja vertailevaa tutkimusmenetelmää ja tutkimusote oli kvantitatiivinen. Määritystuloksia kerättiin marraskuusta 2009 huhtikuun loppuun 2010. Tutkimusaineisto koostui 51 näytteestä, joista oli pyydetty veren kantasolumääritys (B-SC). Näytteet määritettiin FACSCalibur™-virtaussytometrillä ja Sysmex XE-5000™ -soluautomaatilla. Tulokset analysoitiin Microsoft® Office Excel -taulukkolaskentaohjelmaa hyödyntäen ja havainnollistettiin kuvioin.

Kaikista kantasolutuloksista (n = 51) laskettu korrelaatiokerroin r oli 0,70, joka kertoo korrelaation olevan kohtalaista. Kun tulokset jaettiin kahteen ryhmään FACSCalibur™-virtaussytometrin tuloksen mukaan, tuloksilla alle  $30 \times 10^6/l$  (n = 30) korrelaatio oli parempi (r = 0,73). Tuloksilla yli  $30 \times 10^6/l$  (n = 21) korrelaatiokertoimen arvo laski merkittävästi (r = 0,27) ollen heikkoa. Kaikkien tulosten joukossa oli kaksi tapausta, joissa Sysmex XE-5000™ -soluautomaatti antoi tuloksen  $0,0 \times 10^6/l$  ja FACSCalibur™-virtaussytometri lähelle kantasolukeräyksen aloitusrajaa  $20 \times 10^6/l$ . Kohtalaisesta korrelaatiosta huolimatta Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin antamia tuloksia ei voida pitää luotettavina tällaisten yksittäisten tapausten vuoksi. Epäluotettavat kantasolujen määritystulokset voivat olla kohtalokkaita potilaan hoidon kannalta, eikä Sysmex XE-5000™ -soluautomaattia voida tämän tutkimuksen perusteella käyttää luotettavasti kantasolukeräyksen ajankohdan määrittämiseen. Jatkotutkimusaiheena voisi olla tehdä tutkimus suuremmalla otoskoolla potilaan kokonaisleukosyyttimäärä ja diagnoosi huomioiden.

---

Asiasanat: Autologinen kantasolusiirto, hematopoeettiset kantasolut, FACSCalibur™, Sysmex XE-5000™, CD34-positiiviset solut.

## ABSTRACT

Tampere University of Applied Sciences  
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science

JOKINEN, MIRVA & MÄÄTTÄNEN, HELENA:  
Comparison of Hematopoietic Stem Cell Results with FACSCalibur™ Flow Cytometer and Sysmex XE-5000™ Automated Hematology Analyzer

Bachelor's thesis 60 pages  
October 2010

---

Stem cell enumerations are used in stem cell transplantations for optimizing the timing of stem cell harvest. In the Centre for Laboratory Medicine of Pirkanmaa Hospital District, the FACSCalibur™ flow cytometer is used for enumerating the stem cell amount in the peripheral blood. It would also be possible to use the Sysmex XE-5000™ automated cell analyzer which makes the enumeration cheaper and simpler and the enumerations could be done outside office hours. The purpose of this thesis was to compare the hematopoietic stem cell results of FACSCalibur™ and Sysmex XE-5000™.

The method of this study was empirical, comparing, and quantitative. The data were collected from November 2009 to the end of April 2010. The sample of the study consisted of 51 blood samples which were analyzed with both analyzers.

The correlation factor calculated from all results ( $n = 51$ ) was 0.70. The results were divided in two groups according to the results of FACSCalibur™. In the group with results under  $30 \times 10^6/l$  ( $n = 30$ ), the correlation factor was 0.73. In the group with results over  $30 \times 10^6/l$  ( $n = 21$ ), the factor was 0.27. Despite the moderate correlation factor, the results of Sysmex XE-5000™ cannot be considered reliable. In a few cases, a wrong harvest decision could have been made.

---

Keywords: Autologous stem cell transplantation, hematopoietic stem cells, FACSCalibur™, Sysmex XE-5000™, CD34 positive cells

## SISÄLLYS

1 JOHDANTO .....	6
2 HEMATOPOEETTISET KANTASOLUT.....	8
2.1 Hematopoeettisten kantasolujen ominaisuudet .....	8
2.2 Leukosyyttien pinta-antigeenien luokitus .....	9
3 KANTASOLUSIIROT .....	10
3.1 Kantasolusiirtojen historiasta nykypäivään .....	10
3.2 Allogeeninen ja autologinen kantasolusiirto.....	11
3.3 Autologisten kantasolusiirtojen yleisimmät käyttöaiheet .....	12
3.3.1 Non-Hodgkin-lymfooma .....	13
3.3.2 Multipple myelooma .....	16
3.4 Autologinen kantasolusiirto hoitomenetelmänä .....	18
3.4.1 Mobilisaatiohoito ja keräysajankohdan määrittäminen .....	18
3.4.2 Kantasolukeräyksen suoritus .....	19
3.4.3 Keräystuotteen käsittely kantasolulaboratoriossa .....	21
3.4.4 Kantasolutuotteen palautus potilaalle .....	22
4 KANTASOLUMÄÄRITYS FACSCalibur™-VIRTAUSSYTOMETRILLA.....	24
4.1 Virtausytometrinen menetelmä .....	24
4.2 Reagenssit CD34-positiivisten kantasolujen määrittämisessä .....	26
4.3 Määrittäksen suoritus Laboratoriokeskuksessa .....	28
5 KANTASOLUMÄÄRITYS SYSMEX XE-5000™ -SOLUAUTOMAATILLA.....	31
5.1 Mittauskanavat ja määrittämenetelmät .....	32
5.2 Hematopoeettisten kantasolujen määrittäminen.....	33
5.3 Radioaalto- ja tasavirtadetektio .....	33
5.4 Kantasolumäärittäysten tarkastelu .....	34
6 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄ .....	35

	5
7 TUTKIMUSMENETELMÄ .....	36
8 TUTKIMUKSEN LÄHTÖKOHDAT JA TOTEUTUS .....	38
9 TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU .....	40
9.1 Tutkimusaineiston analyysimenetelmät .....	40
9.2 Tulokset.....	41
9.3 Johtopäätökset .....	44
10 POHDINTA .....	46
LÄHTEET .....	49
LIITTEET.....	54

## 1 JOHDANTO

Kantasolusiirtoja voidaan käyttää pahanlaatuisten sairauksien hoidossa suuren solunsalpaaja-annoksen jälkeen (Elonen & Elomaa 2007, 166). Autologisessa kantasolusiirrosta potilaalle siirretään häneltä itseltään kerättyjä kantasoluja, kun taas allogeenisessa siirrettävät solut saadaan sopivalta luovuttajalta (Ehsan 2004, 609). Autologisen kantasolusiirron toteuttamiseksi potilaan perifeerisestä verestä kerätään hematopoeettisia kantasoluja, joiden määrää lisätään solunsalpaaja- ja kasvutekijähoidoilla. Oikean keräysajankohdan määrittämiseksi potilaalta seurataan perifeerisen veren hematopoeettisten kantasolujen määrää. (Ruutu 2007, 498.)

Leukosyytit ilmentävät pinnallaan antigeenejä (CD, cluster of differentiation), joita käytetään markkereina eli merkkiaineina solulinjan ja kypsyysasteen tunnistamiseen (Coleman 2004, 88). Hematopoeettisille kantasoluille ominaista on niiden pinnalla oleva CD34-antigeeni (Craig 2004a, 430 – 431). Hematopoeettisten kantasolujen määrä voidaan selvittää määrittämällä CD34-positiivisten solujen määrä (Ruutu 2007, 498).

Sysmex XE-5000™ -soluautomaatti on ollut käytössä Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksessa kevästä 2009. Laitteella on mahdollista määrittää verenkuvan lisäksi myös hematopoeettisia kantasoluja. Tällä hetkellä hematopoeettisten kantasolujen määritykset tehdään hematologian laboratoriossa ainoastaan FACSCalibur™-virtaussytometrillä mittaamalla CD34-positiivisten solujen määrää. Kantasolumäärityksestä FACSCalibur™-virtaussytometrillä aiheutuu enemmän kustannuksia kuin Sysmex XE-5000™ -soluautomaatilla reagenssi- ja henkilöstökulujen vuoksi. Sysmex XE-5000™ -soluautomaatilla määrittäminen on nopeampaa ja työvaiheiltaan yksinkertaisempaa kuin FACSCalibur™-virtaussytometrillä. Lisäksi Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin käyttöön on perehdytetty useampi työntekijä kuin FACSCalibur™-virtaussytometrin käyttöön, jolloin kantasolumäärityksiä olisi mahdollista tehdä myös päivystysaikana.

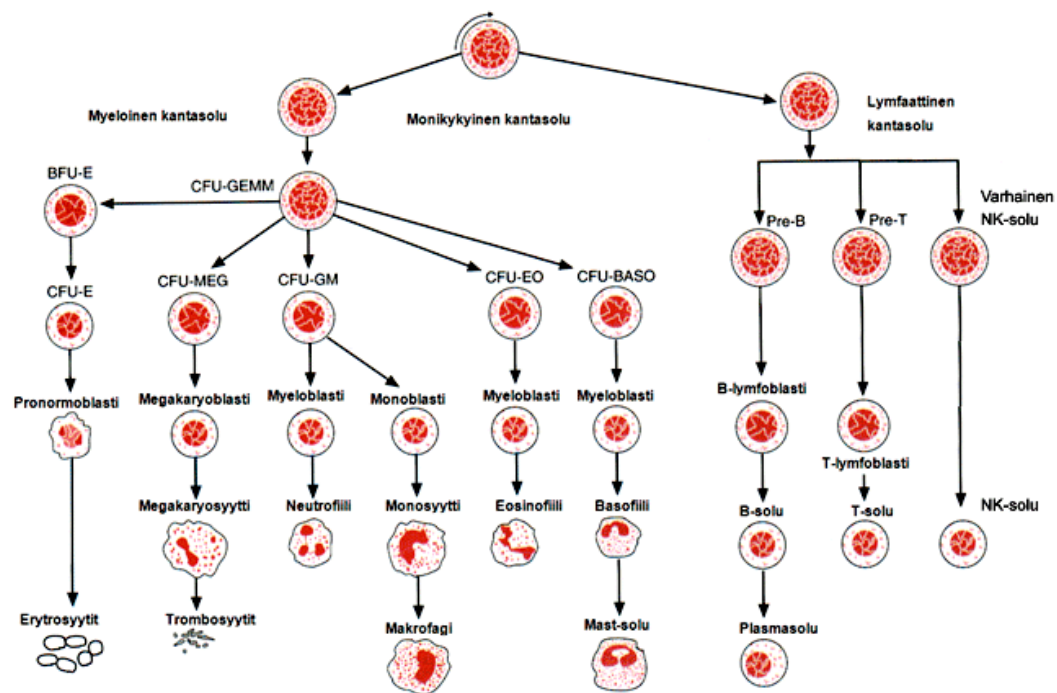
Laboratoriokeskuksessa halutaan selvittää, voidaanko Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin tulosta käyttää FACSCalibur™-virtaussytometrin rinnalla suun-

taa-antavana kantasolukeräyksen ajoittamisessa. Opinnäytetyön tarkoituksena on vertailla Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin ja FACSCalibur™-virtaussytometrin antamia hematopoeettisten kantasolujen määritystuloksia. Opinnäytetyön tavoitteena on hematologian laboratorion toiminnan kehittäminen hematopoeettisten kantasolujen määritysmenetelmien osalta. Opinnäytetyö kuuluu empiirisen ja vertailevan tutkimuksen piiriin, jossa on kvantitatiivinen tutkimusote.

Opinnäytetyön alussa käsitellään hematopoeettisten kantasolujen erilaistumista ja kypsymistä veren eri soluiksi sekä leukosyyttien CD-luokitusta. Tämän jälkeen käsitellään kantasolusiirtoja hoitomenetelmänä ja selvitetään, missä yhteyksissä allogeenista ja autologista kantasolusiirtoa käytetään. Kantasolusiirtojen yhteydessä käsitellään non-Hodgkin-lymfoomaa ja multippelia myeloomaa, jotka ovat yleisimmät autologisten kantasolusiirtojen käyttöindikaatiot Suomessa. Kantasolutoimintaa käsitellään Tampereen yliopistollisen sairaalan (TAYS) ja Laboratoriokeskuksen käytäntöjen perusteella. Vertailussa käytettävien laitteiden määritysmenetelmät ja käytännön suoritus on esitelty pääpiirteittäin. Tulososiossa Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin ja FACSCalibur™-virtaussytometrin antamia tuloksia havainnollistetaan graafisesti kuvioiden avulla sekä laskemalla tuloksista korrelaatiokertoimet. Opinnäytetyö on suunnattu bioanalyttikko-opiskelijoiden lisäksi muille kantasolusiirroista kiinnostuneille, joilla on jo hematologian perustietämystä.

## 2 HEMATOPOEETTISET KANTASOLUT

Kaikki verisolut saavat alkunsa monikykyisistä hematopoeettisista kantasoluista tapahtumasarjan kautta, jota kutsutaan hematopoesiksi (kuvio 1) (Siitonen & Koistinen 2007, 16). Hematopoesilla tarkoitetaan verisolujen tuottoa, kypsymistä ja erilaistumista. Hematopoesia tapahtuu pääasiassa luuytimessä. (Turgeon 2004, 61; Wallace 2002, 78.)



KUVIO 1. Kaavio hematopoesista (mukailen Wallace 2002, 73; Siitonen & Koistinen 2007, 19)

BFU = burst forming unit, CFU = colony forming unit  
(pesäkkeitä muodostavat suuntautuneet kantasolut)

### 2.1 Hematopoeettisten kantasolujen ominaisuudet

Luuytimen soluista on arviolta 0,01 – 0,05 % monikykyisiä hematopoeettisia kantasoluja (Siitonen & Koistinen, 2007, 17). Monikykyisillä hematopoeettisilla kantasoluilla on kyky erilaistua kaikkien solulinjojen verisoluiksi. Tämän lisäksi ne voivat tuottaa itsensä kaltaisia tytärsoluja. Suurin osa monikykyisistä hematopoeettisista kantasoluista on lepovaiheessa ja vain pieni osa on mukana solu-



syklissä. (Williams 2004, 22.) Noin 1 – 3 % luuytimen soluista on suuntautuneita hematopoeettisia kantasoluja, jotka ovat suuntautuneet joko myeloiseen tai lymfaattiseen solulinjaan (Siitonen & Koistinen 2007, 18 – 19). Suuntautuneet hematopoeettiset kantasolut ovat erilaistumiskyvyltään rajoittuneempia kuin monikykyiset hematopoeettiset kantasolut (Williams 2004, 23).

Solulinjojen kehitykseen vaikuttavat erilaiset sytokiinit ja kasvutekijät, joita ovat muun muassa interleukiinit, pesäkkeitä eli kolonioita stimuloivat tekijät (colony stimulating factor, CSF), interferonit ja kemokiinit. Sytokiinit ja kasvutekijät voivat vaikuttaa solujen tuotantoon ja erilaistumiseen joko estävästi tai kiihdyttävästi. (Wallace 2002, 74.)

## 2.2 Leukosyyttien pinta-antigeenien luokitus

Kuten muutkin solut, leukosyytit ilmentävät pinnallaan erilaisia molekyylejä (Coleman 2004, 88). Cluster of differentiation (CD) -luokitus on kansainvälisesti sovittu järjestelmä solujen pintamolekyyleille. Luokituksen perustana ovat samaa pinta-antigeeniä tunnistavat vasta-aineet, jotka on nimetty CD-numeroilla. (Salmi & Jalkanen 2007, 673.) Luokitusta käytetään nimeämään sekä vasta-aine että pinta-antigeeni, jonka vasta-aine tunnistaa. Pinta-antigeenejä voidaan käyttää markkereina, joiden avulla voidaan tunnistaa solulinja ja kypsyysaste. (Coleman 2004, 88.) Luokitusta hyödynnetään esimerkiksi hematologisten maligniteettien sekä immuunipuutostilojen diagnostiikassa ja seurannassa. Pinta-molekyylejä voidaan tutkia virtausytometriassa sekä sytokemiallisten värjäysten avulla. (Coleman 2004, 88; Salmi & Jalkanen 2007, 673.)

Hematopoeettisia kantasoluja ei voida morfologisesti erottaa pienistä lymfosyyteistä. Monikykyisissä hematopoeettisissa kantasoluissa sekä suuntautuneissa kantasoluissa esiintyy CD34-antigeeniä. (Williams 2004, 22.) Valtaosa näistä soluista on CD34-positiivisia, mitä käytetään hyödyksi kantasolujen tunnistuksessa (Siitonen & Koistinen 2007, 18). Hematopoeettisten kantasolujen lisäksi CD34-positiivisuus voi ilmetä usein myös maligneissa verisoluissa (Ruutu 2007, 499).

### 3 KANTASOLUSIIRROT

Solunsalpaajahoitoja käytetään esimerkiksi pahanlaatuisten hematologisten sairauksien hoidossa. Solunsalpaajien luuydintoksisuus rajoittaa kuitenkin hoidossa käytettävän annoksen suuruutta. Annoksen suuruutta voidaan kasvattaa ja solunsalpaajahoitoa tehostaa keräämällä etukäteen kantasoluja ja palauttamalla ne takaisin solunsalpaajahoidon jälkeen. (Elonen & Elomaa 2007, 166.) Hoitomuotona kantasolusiirto edellyttää potilaan riittävän hyvää yleiskuntoa. Iän myötä komplikaatoriski kasvaa, minkä vuoksi kantasolusiirroille on määritelty suuntaa-antavat yläikärajat. (Ruutu 2007, 500.) Jos kantasolujen luovuttajana on toinen henkilö kuin potilas itse, tätä kutsutaan allogeeniseksi kantasolusiirroksi (Elonen & Elomaa 2007, 166). Potilaalta itseltään kerättyjen kantasolujen palauttamista kutsutaan autologiseksi kantasolusiirroksi (Jantunen 2008a, 1171).

#### 3.1 Kantasolusiirtojen historiasta nykypäivään

Luuytimen merkitys verisoluja muodostavana kudoksena ymmärrettiin 1860-luvulla. Ensimmäinen dokumentoitu luuydinsiirto tehtiin vuonna 1939, jolloin potilas sai luuydintä suonensisäisesti samaa veriryhmää olevalta veljeltään. Siirto ei kuitenkaan ollut onnistunut, vaan potilas kuoli muutamia päiviä myöhemmin. (Negrin & Blume 2006, 301.) Hiirikokeella osoitettiin 1950-luvulla suonensisäisen luuydinsiirron parantavan mahdollisuuksia toipua kuolettavan toksisesta säteilyannoksesta. Leukosyyttiantigenijärjestelmä (human leucocyte antigen, HLA) keksittiin 1960-luvulla. Samalla vuosikymmenellä suoritettiin ensimmäinen onnistunut allogeeninen luuydinsiirto leukemiaa sairastavalle potilaalle, joka sai siirteen veljeltään. (Negrin & Blume 2006, 301; Ehsan 2004, 609.) Allogeeniset kantasolusiirrot yleistyivät hoitomuotoina 1970-luvulla, jolloin luuytimen luovuttajina olivat ainoastaan sisarukset. Tultaessa 1970-luvun lopulle allogeenisia kantasolusiirtoja tehtiin onnistuneesti myös luovuttajilta, jotka eivät olleet sukua potilaille. Samoihin aikoihin suoritettiin myös ensimmäinen onnistunut autologinen kantasolusiirto. (Negrin & Blume 2006, 301.)

Suomessa autologisia kantasolusiirtoja tehdään kaikissa yliopistollisissa sairaaloissa. Allogeenisia kantasolusiirtoja tehdään vain Helsingin ja Turun yliopistollisissa keskussairaaloissa. Tampereen yliopistollisessa keskussairaalassa autologinen kantasolusiirtotoiminta on alkanut vuonna 1985. Ensimmäiset luuydin-siirrot tehtiin vuonna 1991. Perifeerisen veren kantasolujen keräys alkoi vuonna 1992. Tällöin perifeerisen veren kantasolut palautettiin yhdessä luuytimeistä kerättyjen kantasolujen kanssa. Pelkästään perifeerisestä verestä kerättyjen kantasolujen palautuksia potilaalle on tehty vuodesta 1993. Tästä alkaen lähes kaikki autologiset kantasolusiirrot on tehty perifeerisen veren kantasoluilla. (Pirkanmaan sairaanhoitopiiri 2003, 1.) Elokuun 2010 loppuun mennessä Tampereen yliopistollisessa keskussairaalassa oli tehty 1793 autologista kantasoluke-räystä ja 613 autologista kantasolusiirtoa (Laboratoriokeskus 2010).

### 3.2 Allogeeninen ja autologinen kantasolusiirto

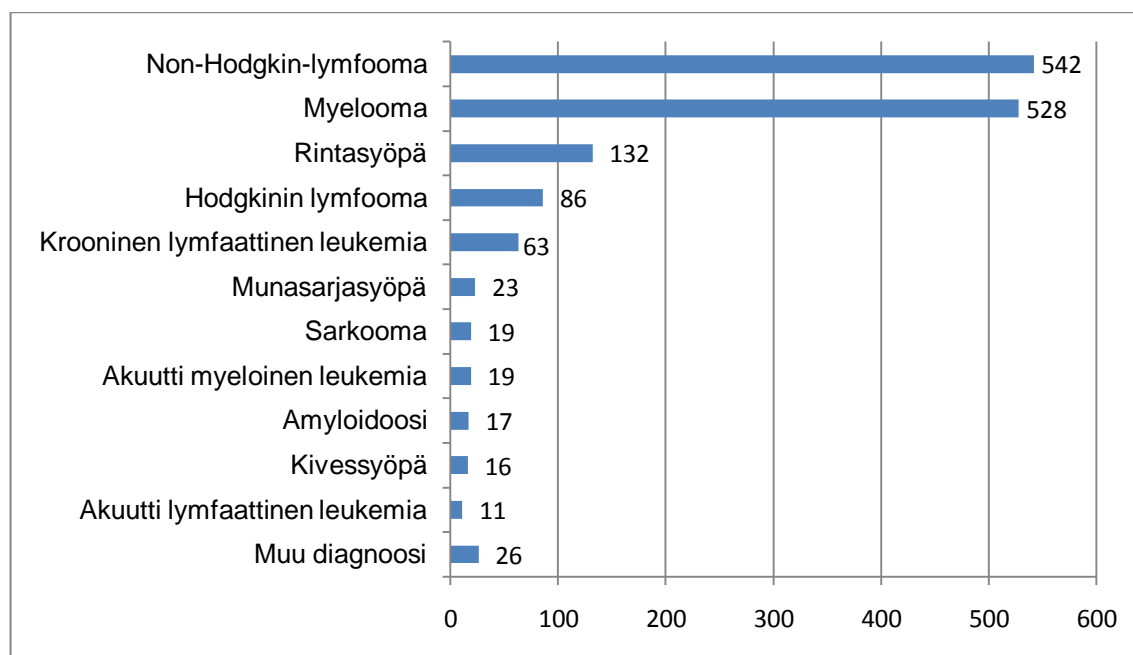
Allogeenisen kantasolusiirteiden luovuttajana on useimmiten sisarus, lähisukulainen, rekisteriluovuttaja tai napaveriluovuttaja, joka on yhtenäinen potilaan HLA-tyyppin kanssa (Ruutu 2007, 493, 495). Allogeenisessä kantasolusiirroissa riskinä ovat kuitenkin erilaiset komplikaatiot ja jopa kuolema kääntheishyljintäreaktion (graft-versus-host disease, GVHD), immunosuppressiivisen hoidon tai infektioiden seurauksena (Elonen & Elomaa 2007, 166). Allogeenisen kantasolusiirron etuna on siirteiden sisältämien T-lymfosyyttien kyky tuhota potilaan syöpäsoluja. Tätä kutsutaan graft-versus-leukemia (GVL) -vaikutukseksi. (Ehsan 2004, 613.)

Jos sairaus koskee potilaan kantasoluja, ei autologista kantasolusiirtoa voida tehdä. Tällöin voidaan hoitomuotona käyttää allogeenista kantasolusiirtoa. (Ehsan 2004, 610.) Allogeenisen kantasolusiirron indikaatioita ovat esimerkiksi akuutit leukemiat, krooninen myeloinen leukemia, myelodysplastinen syndrooma ja myelofibroosi (Elonen & Elomaa 2007, 167). Allogeenisia kantasolusiirtoja voidaan tehdä alle 60-vuotiaille. Jos potilasta hoidetaan pienemmällä solunsal-paaja-annoksella, voidaan allogeeninen kantasolusiirto tehdä vielä 65. ikävuoteen asti. (Elonen & Elomaa 2007, 167; Ruutu 2007, 500.)

Autologiset kantasolusiirrot tehdään nykyään suurimmaksi osaksi (98 %) potilaan perifeerisestä verestä kerättyjen kantasolujen avulla, kun aikaisemmin kantasolusiirrot tehtiin luuydinsiirteen avulla (Jantunen 2008a, 1171). Autologisessa kantasolusiirrossa HLA-yhteensopivuus ei ole ongelma, koska siirre kerätään potilaalta itseltään. Tästä johtuen autologisiin kantasolusiirtoihin ei liity käänteishyljinnän riskiä. Autologisiin kantasolusiirtoihin liittyy kuitenkin ongelmia. Kaksi suurinta ongelmaa ovat siirteen mahdollisesti sisältämät syöpäsolut ja solunsalpaajahoidon aiheuttama kantasolujen vaurio. (Ehsan 2004, 612; Ruutu 2007, 499.) Viimeisintä voidaan estää vähentämällä solunsalpaajahoitoa ennen keräystä ja käyttämällä kantasoluille vähemmän toksisia solunsalpaajia (Ruutu 2007, 499).

### 3.3 Autologisten kantasolusiirtojen yleisimmät käyttöaiheet

Autologisen kantasolusiirron yleisimmät käyttöaiheet ovat lymfoomat, etenkin non-Hodgkin-lymfooma, ja multippeli myelooma (kuvio 2, sivu 13). Rintasyöpä nousi yleisimmäksi käyttöaiheeksi 1990-luvun lopulla, mutta autologisten kantasolusiirtojen käyttö on vähentynyt rintasyövän kohdalla merkittävästi muun muassa uusien hoitomuotojen vuoksi. (Jantunen 2008a, 1171.) Opinnäytetyössä käsitellään kahta yleisintä autologisen kantasolusiirron käyttöaihetta, jotka ovat non-Hodgkin-lymfooma ja multippeli myelooma.



KUVIO 2. Suomessa 1990 – 2003 aikuispotilaille tehdyt autologiset kantasolusiirrot diagnoosin mukaan (n = 1482) (mukaillen Jantunen 2008a, 1172)

### 3.3.1 Non-Hodgkin-lymfooma

Lymfoomat ovat heterogeeninen ryhmä lymfaattisen kudoksen eli imukudoksen pahanlaatuisia sairauksia. Lymfaattista kudosta on imusolmukkeiden ohella muun muassa nielurisoidissa, pernassa, kateenkorvassa ja suolistossa. (Craig 2004b, 586.) Erotuksena lymfaattisista leukemioista, lymfoomat ovat lähtöisin lymfaattisesta kudoksesta, kun taas leukemia rajoittuu pääasiassa luuytimeen (Foon, Ghobrial, Geskin & Jacobs 2006, 1407). Lymfooman ja leukemian raja on kuitenkin häilyvä. Lymfoomasolukko muistuttaa leukemiasolukkoa, ja tauti voi levitä myös luuytimeen. Mikäli luuytimessä on vähintään 25 % blasteja ja taudinkuva vastaa muutoin lymfoomaa, tauti luokitellaan kuitenkin leukemiaksi. (Perkkiö 2007, 631.)

Lymfoomat jaotellaan omiin luokkiinsa Maailman terveysjärjestön (World Health Organization, WHO) vuonna 2001 julkaistun luokituksen mukaan, jota on päivitetty vuonna 2008 (WHO Classification of Tumours 2008, 11 – 12, 14). Luokituksen perustana ovat morfologia, immunohistologia sekä enenevässä määrin myös syto- ja molekyyli-genetiikka (Teerenhovi, Franssila, Lehtinen & Jyrkkiö 2007, 608). Lymfaattiset kasvaimet jaotellaan luokituksen mukaan B-

solukasvaimiin, T- ja NK- (natural killer) solukasvaimiin ja Hodgkinin lymfoomaan (WHO Classification of Tumours 2008, 11 – 12). Muita lymfoomia kuin Hodgkinin lymfoomia kutsutaan non-Hodgkin-lymfoomiksi (NHL) (Howard & Hamilton 2008, 60). Lymfoomien luokittelu on monimutkaista, sillä kullakin pääryhmällä on omat alaryhmänsä ja niillä tyypilliset piirteensä (Teerenhovi ym. 2007, 608).

Terveyden ja hyvinvoinnin laitoksen (THL) vuoden 2007 Suomen syöpätalaston mukaan non-Hodgkin-lymfooma oli seitsemänneksi yleisin syöpä sekä naisilla että miehillä (Cancer in Finland 2009, 88). Länsimaissa non-Hodgkin-lymfooma on yleisin hematologinen maligniteetti ja sen ilmaantuvuus on kasvamassa. Non-Hodgkin-lymfoomia voi esiintyä kaikenikäisillä, mutta keskimääräinen sairastumisikä on 50 vuotta. (Howard & Hamilton 2008, 60.) Suomessa lasten syöivistä 10 % on lymfoomia, joista non-Hodgkin-lymfoomia on hieman yli puolet (Perkkiö 2007, 631). Non-Hodgkin-lymfoomista valtaosa (noin 88 %) on B-solulymfoomia, kun T- ja NK-solulymfoomia on vain noin 12 % (Foon ym. 2006, 1408).

Suurimmassa osassa non-Hodgkin-lymfoomista sairauden syy on vielä epäselvä. On kuitenkin löydetty kromosomitranslokaatioita, jotka liittyvät tiettyyn lymfoomatyypin. (Howard & Hamilton 2008, 60.) Non-Hodgkin-lymfooman riskitekijöiksi on esitetty harvinaisia synnynnäisiä ja hankinnaisia immuunipuutostiloja. Hankinnaisista tiloista esimerkkejä ovat HIV-infektio ja elinsiirron jälkeinen immunosuppressio. (Teerenhovi & Lindsberg 2007, 408.) Lymfooman laukaisevana tekijänä voi olla virusinfektio, kuten Epstein-Barr-virus (EBV) tai ihmisen T-soluleukemia/lymfoomavirus (Human T cell leukemia/lymphoma virus, HTLV-1) (Teerenhovi & Lindsberg 2007, 409; Foon ym. 2006, 1408). Lisääntynyt sairastumisriski liittyy myös autoimmuunitauteihin, kuten Sjögrenin oireyhtymään, Hashimoton tyreoidiittiin, nivelreumaan ja keliakiaan (Teerenhovi & Lindsberg 2007, 409).

Non-Hodgkin-lymfooman oireet vaihtelevat taudin sijaintipaikan mukaan. Ekstranodaalisessa non-Hodgkin-lymfoomassa tauti esiintyy imusolmukkeiden ulkopuolella, esimerkiksi mahalaukussa, iholla, luussa tai aivoissa. (Teerenhovi & Lindsberg, 2007, 610.) Yleisin löydös on kivuton lymfadenopatia eli suurentu-

neet imusolmukkeet kaulan alueella (Howard & Hamilton 2008, 60). Potilaalla voi olla myös B-oireiksi kutsuttuja yleisoireita, kuten kuumeilua, yöhikoilua ja painon laskua. Nämä oireet viittaavat levinneeseen tautiin. (Howard & Hamilton 2008, 60; Teerenhovi & Lindsberg 2007, 411.) Potilas voi myös olla oireeton lymfooman toteamishetkellä. Potilas tulee lähettää jatkotutkimuksiin, mikäli hänellä todetaan yli 1,5 cm:n kokoisia imusolmukkeita eikä potilaalla ole imusolmukkeiden suurenemisen selittävää infektiota eivätkä imusolmukkeet pienene kuukauden kuluessa. (Vuoristo ym. 2006, 84.)

Lymfoomien diagnostiikka on vaativaa, koska siinä tarvitaan useita tutkimusmenetelmiä ja erityistä hematopatologista asiantuntemusta (Vuoristo ym. 2006, 84; Teerenhovi & Karjalainen-Lindsberg 2007, 410). Lymfoomaa epäiltäessä perustutkimuksena potilaan pinnalliset imusolmukkeet palpoidaan ja tutkitaan nielu. Pinnallisia imusolmukkeita voidaan tutkia myös ultraäänien avulla. Ohutneulanäyte on epäluotettava lymfoomadiagnostiikassa, ja luotettava diagnoosi saadaan vain histologisesta näytteestä. Näytteeksi otetaan kokonainen imusolmuke tai mahdollisimman suuri pala. Lymfooman diagnoosi perustuu ensisijaisesti morfologiaan, jota täydentävät immunohistokemialliset tutkimukset. Lisänä käytetään myös sytogeneettisiä ja molekyylibiologisia menetelmiä. Levinneisyystutkimuksina käytetään vartalon ja kaulan tietokonetomografiakuvauksia, thoraxröntgentutkimusta sekä luuytimen aspiraatio- ja biopsiatutkimuksia. (Vuoristo ym. 2006, 84.)

Lymfooman levinneisyyttä voidaan arvioida Ann Arbor -levinneisyysluokituksen luokkien I – IV avulla. Luokassa I lymfooma esiintyy vain yhdellä imusolmukealueella, kun taas luokassa IV lymfooma on levinnyt yhteen tai useampaan imusolmukkeen ulkopuoliseen elimeen tai kudokseen. (Teerenhovi & Karjalainen-Lindsberg 2007, 411; Elonen & Karjalainen-Lindsberg 2007, 398.) Ann Arbor -luokituksen lisäksi käytetään IPI-ennusteluokitusta (International NHL Prognostic Index), joka voidaan laskea potilaan iän, Ann Arbor -luokan, veren laktaattidehydrogenaasin pitoisuuden, WHO-luokituksen sekä imusolmukkeiden ulkopuolisten pesäkkeiden perusteella. (Teerenhovi & Karjalainen-Lindsberg 2007, 414.) IPI-pisteiden mukaan potilaat jaetaan matalan, kohtalaisen matalan, kohtalaisen korkean ja korkean riskin ryhmiin. Matalan riskin ryhmään kuuluvista potilaista 73 % on elossa viiden vuoden kuluttua, kun taas korkean riskin

ryhmän kohdalla vastaava luku on vain 26 %. Yleisesti ottaen lymfooman hoitoon ja ennusteeseen vaikuttavat lymfooman histologinen tyyppi, IPI-luokitus, potilaan yleistila sekä muut sairaudet. (Vuoristo ym. 2006, 87.)

### 3.3.2 Multippleli myelooma

Multippleli myelooma kuuluu pahanlaatuisiin plasmaklonaalisiin (Remes 2007, 454). Maailman terveysjärjestön (WHO) uusien luokitusten (2008) hematopoeettisten ja lymfaattisten kudosten kasvaimista luokittelee multipplelin myelooman kuuluvaksi kypsien B-solukasvainten joukkoon (WHO Classification of Tumours 2008, 11). Multipplelin myelooman osuus pahanlaatuisista sairauksista on noin 1 % ja pahanlaatuisista veritaudeista sen osuus on hieman yli 10 %. Multippleli myelooma on harvinainen alle 40-vuotiailla. Keskimäärin tautiin sairastutaan 60 – 70-vuotiaana, ja miehillä riski sairastumiseen on hieman suurempi kuin naisilla. Sairastumisen tarkkaa aiheuttajaa ei tunneta. (Turgeon 2004, 280.) Suuri säteilyaltistus saattaa aiheuttaa lisääntyneitä riskejä sairastumiseen, samoin myös pidempiaikaiset antigeenialtistukset (McKenna ym. 2008, 202). Turgeonin (2004) mukaan geneettisten tekijöiden vaikutus sairastumiseen on myös mahdollista (Turgeon 2004, 280).

Luu-dinnäytteestä löytyy plasmaklonaaleja usein yli 30 % kokonaissolumäärästä, mutta vähintään niitä on löydettävä 10 % (Craig 2004b, 602 – 603; Remes 2007, 461). Multippleliä myeloomaa sairastavista potilaista 15 %:lla voidaan löytää plasmaklonaaleja perifeerisestä verestä. Tällöinkin niitä löydetään vain muutamia. Jos plasmaklonaalisten määrä perifeerisessä veressä kasvaa, kyseessä on tällöin plasmaklonaalileukemia. (McKenna 2008, 205.) Immunofenotyyppityksessä luuytimen pahanlaatuiset plasmaklonaalit eivät ilmennä pinnallaan normaaleja B-solun pinta-antigeenejä CD19, CD20 ja CD22 tai ilmentävät niitä vain heikosti. Pinta-antigeenit CD56, CD38 ja CD138 sekä sytoplasminen immunoglobuliini sen sijaan ovat tyypillisiä pahanlaatuiselle plasmaklonaalille. (Remes 2007, 456 – 457.)

Pahanlaatuiset plasmaklonaalit tuottavat monoklonaalista immunoglobuliinia syrjäyttäen normaalin immunoglobuliinituotannon. Tämän vuoksi potilas voi sairastua vakaviin infektioihin. Seerumin tai virtsan elektroforeesissa monoklonaalinen



immunoglobuliini voidaan havaita niin sanottuna M-komponenttina. Immunofiksaation avulla monoklonaalisen immunoglobuliinin luokka saadaan selville. Useimmiten immunoglobuliinin luokka on IgG tai IgA ja harvemmin luokkaa IgD tai IgE. (Kotlyo 2002, 503; Craig 2004b, 603.)

Pahanlaatuiset plasmasolut tuottavat osteoklasteja (luunsyöjäsolu) aktivoivaa tekijää. Tämän vuoksi multipplia myeloomaa sairastavalla potilaalla saattaa ilmetä luustosyöpymiä ja murtumia koko kehon alueella. (Kotlyo 2002, 503.) Diagnoosivaiheessa 70 %:lla potilaista havaitaan röntgenkuvin luustosyöpymiä. Multipplien myelooman yleisimpiä oireita ovat luustokivut, joita esiintyy erityisesti selän alueella. (Remes 2007, 459.) Osteoklastien aktiivisuudesta johtuen seerumin kalsiumpitoisuus kohoaa, mistä saattaa aiheutua kalsiumin haitallista saostumista muihin kudoksiin (Kotlyo 2002, 503). Hyperkalsemia sekä monoklonaalisten immunoglobuliinien erittyminen virtsaan voivat aiheuttaa munuaisten vajaatoimintaa ja munuaisvaurioita (Remes 2007, 459). Luuytimen myelomasolukko haittaa normaalia verisolujen muodostusta, mistä seuraa trombosytopeniaa, anemiaa ja leukopeniaa. Tyypillisiä laboratoriolöydöksiä ovat alentuneet hemoglobiini-, leukosyytti- ja trombosyyttiarvot sekä korkea lasko. Uraatin ja kalsiumin määrä seerumissa on usein myös suurentunut ja albumiinin määrä pienentynyt. (Oivanen & Sinisalo 2009.)

Multipplien myelooman hoidon päätavoitteena on remission saavuttaminen. Jos remissioon pääsy ei ole mahdollista, pyritään mahdollisimman hyvään hoitovasteeseen. (Jantunen 2008b, 60.) Odotettavissa oleva elinikä on noin 3 – 4 vuotta solunsalpaajahoitoa käytettäessä. Suomessa alle 70-vuotiailla eliniän odote on noin 49 kuukautta ja yli 70-vuotiailla 31 kuukautta. (Remes 2007, 463.) Autologisen kantasolusiirron tuella toteutettu intensiivihoido on yleisin hoitomuoto alle 70-vuotiaille. Tällöin eliniän odote nousee noin vuodella tavanomaiseen solunsalpaajahoitoon verrattuna. (Oivanen & Sinisalo 2009.) Nykykäsityksen mukaan multipple myelooma voidaan pysyvästi parantaa ainoastaan allogeenisen kantasolusiirren avulla. Ongelmana on kuitenkin ollut käännteishyljintäreaktiosta johtuva suuri toimenpidekuolleisuus. Hoitomuodosta riippumatta useimmilla potilailla todetaan relapsi tai taudin eteneminen muutaman vuoden kuluessa. (Jantunen 2008b, 63 – 64.)

### 3.4 Autologinen kantasolusiirto hoitomenetelmänä

Autologinen kantasolusiirto on monivaiheinen prosessi. Hoitosuunnitelman laatiminen, aikataulutus ja hoidon toteuttaminen vaativat moniammatillista yhteistyötä niin hoito-osaston ja laboratorion kuin sairaanhoitopiirienkin välillä. (Hautamäki ym. 2003, 1.) Eri yliopistosairaaloiden välillä saattaa olla toimipaikkakohdaisia eroja kantasolusiirtoprosessissa. Opinnäytetyössä keskityimme lähinnä Tampereen yliopistollisessa sairaalassa (TAYS) ja Laboratoriokeskuksessa tapahtuvaan kantasolusiirtotoimintaan.

#### 3.4.1 Mobilisaatiohoito ja keräysajankohdan määrittäminen

Normaalitilanteessa perifeerisessä veressä on hyvin pieniä määriä hematopoeettisia kantasoluja (alle 0,01 %). Ilman mobilisaatiohoitoa riittävän perifeerisen veren kantasolusiirteiden kerääminen ei olisi mahdollista. (Ruutu 2007, 494; Ehsan 2004, 613.) Mobilisaatiohoito toteutetaan antamalla potilaalle ensin solunsalpaajahoidon ja tämän jälkeen granulosityttikasvutekijää (G-CSF) tai granulosityttikasvutekijää yksinään. Yleisimmin käytetään kuitenkin solunsalpaajan ja granulosityttikasvutekijän yhdistelmää parantamaan hoidon tehokkuutta. (Jantunen 2008a, 1171; Ehsan 2004, 613.) Mobilisaatiohoidossa käytettävät solunsalpaaja-annokset on pidettävä pieninä siirteiden laadun turvaamiseksi. Solunsalpaajan tarkoitus on pienentää tautisolukuormaa tuhoamalla syöpäsoluja. Lisäksi solunsalpaajan aiheuttaman sytopenian toipumisvaiheessa luuydin alkaa tuottaa vereen runsaasti hematopoeettisia kantasoluja. Hematopoeettisten kantasolujen määrää voidaan lisätä antamalla samanaikaisesti granulosityttikasvutekijää. Kantasolujen määrää veressä voidaan täten kasvattaa jopa 100 – 300-kertaiseksi normaalitilanteeseen verrattuna. (Ruutu 2007, 498.)

Oikean keräysajankohdan määrittämiseksi potilaalta seurataan perifeerisen veren CD34-positiivisten solujen määrää, joka samalla kuvastaa kantasolujen määrää. Keräyksen ajoittaminen on tärkeää, sillä kantasolujen määrä perifeerisessä veressä on korkea vain muutaman päivän ajan. (Ruutu 2007, 498.) Tampereen yliopistollisessa sairaalassa kokoveren CD34-positiivisten solujen määrittäminen (B-SC = stem cells eli kantasolut) alkaa yleensä kahdeksantena tai yhdek-

säntenä päivänä solunsalpaajahoidon aloittamisesta (Kantasolujen keräys ja palautus 2007).

Hoito-osaston henkilökunta ottaa näytteet aamulla klo 6, ja laboratorion tulisi antaa vastaus klo 8.15 mennessä osastolle. Määritystä ei suoriteta, jos aikuisilla leukosyyttiarvo on alle  $1,0 \times 10^9/l$  ja lapsilla alle  $0,8 \times 10^9/l$ . Kantasolukeräys voidaan aloittaa, kun CD34-positiivisten solujen määrä on yli  $20 \times 10^6/l$ . Joissakin tapauksissa keräys voidaan aloittaa matalammilla arvoilla. Tällöin arvon tulisi olla kuitenkin yli  $10 \times 10^6/l$ . Ennen keräystä potilaan trombosyyttitaso tulee olla yli  $30 \times 10^9/l$  ja hematokriitin yli 0,30. (Kantasolujen keräys ja palautus 2007.) Kantasolusiirtoon liittyvistä asioista päätetään viikoittain TAYS:n kantasolukokouksissa, joihin osallistuvat kantasoluhoidtoprosessissa mukana olevat yksiköt (Hautamäki ym. 2003). Kantasolukokoukseen osallistuu jokaiselta hoitavalta osastolta vähintään yksi lääkäri sekä hoitaja mahdollisuuksien mukaan. Laboratoriokeskuksesta kokoukseen osallistuu kantasolutoiminnasta vastaava lääkäri ja kantasolulaboratorion laboratoriohoitaja. (Siro 2010.)

#### 3.4.2 Kantasolukeräyksen suoritus

Kantasolut kerätään leukafereesin avulla soluseparaattorilla. Soluseparaattoreina TAYS:ssa käytetään kahta Gambro Cobe<sup>®</sup> Spectra<sup>™</sup> -keräyslaitetta (kuva 1, sivu 20). Keräys suoritetaan TAYS:ssa hematologisella osastolla 10a. (Kantasolujen keräys ja palautus 2007.) Ennen keräystä potilaalle laitetaan 2-lumen eli 2-tie kanyyli (Hautamäki ym. 2003). Keräyslaite ottaa verta toisesta lumenistä ja erottelee veren osat sentrifugilla ottaen talteen kantasoluja sisältävän fraktion. Loput veren osat laite palauttaa toiseen lumeniin samanaikaisesti. (Ruutu 2007, 495; Hautamäki ym. 2003.) Gambro Cobe<sup>®</sup> Spectra<sup>™</sup> -keräyslaite kierrättää potilaan verimäärän 2,3 kertaa. Laite laskee automaattisesti verivolyymin potilaan painon, pituuden ja sukupuolen perusteella. (Kantasolujen keräys ja palautus 2007.)



KUVA 1. Gambro Cobe<sup>®</sup> Spectra<sup>™</sup> -keräyslaite (MedWOW<sup>™</sup> 2010)

Kantasolukeräyksen aikana potilaan verenkiertoon siirtyy noin 1000 ml sitraattia. Sitraatti estää veren hyytymisen letkustossa sitomalla verestä vapaata kalsiumia. Tästä voi aiheutua niin sanottuja sitraattituntemuksia kalsiumin liiallisesta laskusta johtuen. Sitraattituntemuksia voivat olla puutumisen ja pistely sormenpäissä ja huulissa. Oireita voidaan ehkäistä ja lievittää kalsiumlisällä. (Hautamäki ym. 2003.)

Keräystuote eli afereesituote kertyy solupussiin, jonka laboratoriohoitaja noutaa osastolta keräyksen päätyttyä. Jos keräystuotetta joudutaan säilyttämään keräyksen jälkeen yön yli, potilaalta kerätään lisäksi plasmaa, joka lisätään solupussiin solujen säilyvyyden parantamiseksi. (Kantasolujen keräys ja palautus 2007.) Kantasolukeräyksen tavoite on saada kerätyksi niin paljon kantasoluja, että niitä saataisiin yhteen siirtoon vähintään  $4 \times 10^6$ /kg (potilaan painokiloa kohden). Käytännössä keräyksiä suoritetaan 1 – 4 peräkkäisenä päivänä. (Kantasolujen keräys ja palautus 2007; Hautamäki ym. 2003.)

### 3.4.3 Keräystuotteen käsittely kantasolulaboratoriossa

Laboratoriokeskuksen kantasolulaboratoriossa käsitellään perifeerisestä verestä kerättyjä kantasolutuotteita sekä sisarusluovuttajan lymfosyyttikeräystuotteita (Laatujärjestelmän yleiskuvaus 2008). Lymfosyyttikeräykset ovat kuitenkin harvinaisia, ja viimeksi lymfosyyttikeräyksiä on tehty vuonna 2007 (Valo 2010). Keräystuotteen käsittely pakastamiseen ja nestetyypeen säilömiseen asti vaatii tarkkaa aseptista työskentelyä ja järjestelmällisiä työtapoja. Keräystuote käsitellään laminaarivirtauskaapissa huoneessa, jossa on ylipaineistus, ilmastointi ja tuloilman suodatus. Huoneeseen kuljetaan erillisen sulkutilan kautta. (Laatujärjestelmän yleiskuvaus 2008.)

Kantasolulaboratoriossa keräystuotteesta otetaan aluksi erilaisia näytteitä. Näyte bakteeriviljelyä ja -värjäystä varten otetaan tioglykolaatti- eli TIO-putkeen. Lisäksi keräystuotetta otetaan EDTA-putkeen solulaskentaa varten. Suhteessa 1:10 laimennettu näyte määritetään Sysmex XE-5000™ -soluautomaatilla, jolloin saadaan määritetyksi keräystuotteen kokonaisleukosyyttipitoisuus ja mononukleaaristen solujen osuus (mononuclear cells, MNC). Näytteiden oton jälkeen keräystuotepussi punnitaan keräystuotteen tilavuuden määrittämiseksi. Tilavuuden ja kokonaisleukosyyttipitoisuuden avulla saadaan keräystuotteen absoluuttinen leukosyyttien määrä (total nucleated cells, TNC). Keräystuotteen CD34-positiivisten solujen määrä saadaan FACSCalibur™-virtausytometriltä. Potilaan painokiloa kohden lasketaan vielä TNC, MNC ja CD34-positiivisten solujen määrä. Määritetyt ja lasketut arvot kirjataan kantasolukeräyksen koontilomakkeelle (liite 1). (Kantasolutuotteen käsittely 2008.)

Keräystuotteen leukosyyttimäärän perusteella lasketaan tarvittavien jäädytyspussien lukumäärä. Jäädytyspussin tilavuus aikuisilla on 100 ml ja yhdessä jäädytyspussissa saa soluja olla korkeintaan  $100 \times 10^8/100$  ml. Keräystuotepussiin lisätään hepariinia, dimetyylisulfoksidia (DMSO) ja albumiinia leukosyyttimäärän perusteella. Pakastuksen ja sulatuksen yhteydessä soluista syrjäytetään vesi DMSO:n avulla. Tällä tavoin voidaan solut pitää elinkykyisinä. Tämän jälkeen keräystuotepussin sisältö jaetaan jäädytyspusseihin. Ennen jäädytystä keräystuotepussista otetaan näytteet bakteeriviljelyä ja -värjäystä varten. Lisäksi keräystuotepussista otetaan näytettä neljään Nunc™-kryopotkeen myöhemmin teh-

täviä kantasoluviljelyitä varten. (Kantasolutuotteen käsittely 2008.) Kantasoluviljelyiden tarkoitus on varmistaa jäädytettyjen kantasolujen elinkyky ja riittävyys ennen kantasolujen palautusta potilaalle sekä palautuksen jälkeen. Palautuksen jälkeen kantasoluviljely tehdään kantasolusiirteen jäämistä. (Kantasoluviljely 2008.)

Kantasoluja sisältävät jäädytuspussit ja Nunc™-kryoputket esijäädytetään ohjelmoitavalla pakastuslaitteella – 150 °C:een. Tämän jälkeen jäädytuspussit ja kryoputket siirretään nestetyppisammioon, jossa lämpötila on – 196 °C. (Laatujärjestelmän yleiskuvaus 2008; Kantasolutuotteen käsittely 2008.) Jäädytettyjä kantasolupusseja säilytetään nestetyppisammiossa kantasolujen palautukseen asti. Yleisimmin säilytysaika on muutamia kuukausia. Enimmillään kantasoluja säilytetään 10 vuotta, tosin vuosien mittaiset säilytysajat ovat harvinaisia. (Kantasolujen käsittely 2008.)

#### 3.4.4 Kantasolutuotteen palautus potilaalle

Kantasolusiirtoa edeltävänä päivänä kantasolupussit siirretään nestetypestä nestetyypin höyryfaasiin. Pussit kuljetetaan osastolle höyryfaasissa tähän tarkoitukseen suunnitellussa kuljetussäiliössä eli niin sanotussa kryoshipperissä. Osastolla laboratoriohoitaja sulattaa kantasolupussit yksitellen + 40 °C vesihauhteessa välittömästi ennen palauttamista potilaalle. (Laatujärjestelmän yleiskuvaus 2008; Kantasolusiirto 2007.) Laboratoriohoitaja varmistaa ennen sulatusta, että oikea pussi sulatetaan oikealle potilaalle. Jokaisen sulatuksen jälkeen ennen solujen antamista sekä siirtoa suorittava sairaanhoitaja että laboratoriohoitaja varmistavat potilaan henkilöllisyyden. Sulatuksen jälkeen kantasolupussi on siirrettävä potilaalle 15 minuutissa. Jokainen siirretty kantasolupussi merkitään koontilomakkeelle, josta käyvät ilmi siirron järjestysnumero, siirrettyjen solujen määrät ja mahdollisesti siirtämättä jääneet yksiköt sekä siirretyn nesteen tilavuus ja DMSO:n määrä. (Kantasolusiirto 2007.)

Kantasolusiirtoon liittyvät komplikaatiot johtuvat pääasiassa kantasolupussin sisältämästä DMSO:sta (Kantasolujen keräys ja palautus 2007). Tällaisia DMSO:n aiheuttamia haittavaikutuksia ovat esimerkiksi, kurkunpään kutina,

horkka, pahoinvointi, oksentelu, kuume, bradykardia ja verivirtsaisuus (Kantasolujen keräys ja palautus 2007; Ehsan 2004, 614). Pahimmassa tapauksessa DMSO voi aiheuttaa anafylaktisen reaktion. Haittavaikutuksia ennaltaehkäistään antamalla potilaalle esilääkkeeksi antihistamiinia. Haittavaikutusten havaitsemiseksi potilaan sykettä, verenpainetta ja happisaturaatiota tarkkaillaan koko kantasolusiirron ajan. (Kantasolujen keräys ja palautus 2007.)

Kantasolusiirron jälkeen tyhjät pussit tuodaan takaisin laboratorioon. Pussien jäämistä tehdään bakteeriviljely ja -värjäys, kantasoluviljely sekä viabiliteettikontrolli. (Kantasolusiirto 2007.) Viabiliteettikontrollissa lasketaan elävien solujen määrä näytteessä Trypan blue -värjäyksen avulla. Elävät solut eivät värjäydy, kun taas kuolleet solut värjäytyvät sinisiksi. (Solujen viabiliteetti 2005.)

## 4 KANTASOLUMÄÄRITYS FACSCalibur™-VIRTAUSSYTOTOMETRILLA

FACSCalibur™ (kuva 2) on Becton Dickinson and Company:n (BD) valmistama virtausytometri, jota voidaan käyttää sekä solujen analysointiin että niiden lajitteluun. Virtausytometri sisältää 488 nm:n argonlaserin. Siihen on mahdollista lisätä myös toinen 635 nm:n laservalonlähde, joka mahdollistaa nelivärianalyysin. (BD FACSCalibur™ System 2007, 1.) Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorion FACSCalibur™-virtausytometri sisältää kaksi laservalonlähdettä, ja sitä käytetään CD34-määrittämiin sekä lymfosyyttien erittelylaskentaan (B-LyDiff). Lisäksi Laboratoriokeskuksessa on käytössä FACSCanto II™-virtausytometri, jolla muut immunofenotyyppitykset suoritetaan. Virtausytometrit tullaan vaihtamaan uusiin syksyn 2010 aikana. (Kemppi 2010.) Tällä hetkellä Laboratoriokeskuksessa käytetään CD34-tulosten käsittelyssä Procount™-ohjelmistoa (CD34-positiiviset kantasolut 2009).



KUVA 2. FACSCalibur™-virtausytometri (Jokinen & Määttänen 2010)

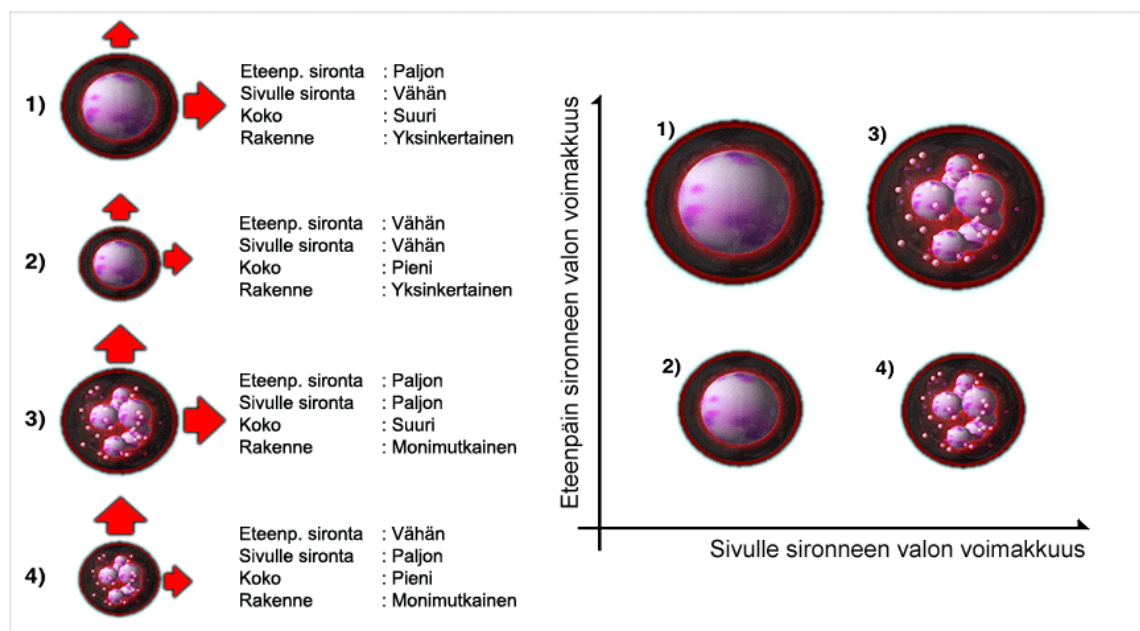
### 4.1 Virtausytometrinen menetelmä

Virtausytometrin avulla saadaan tietoa solujen eri ominaisuuksista, joiden perusteella solut voidaan tunnistaa ja määrittää niiden lukumäärä. Tietoa solun koosta ja sisäisestä rakenteesta saadaan valonsironnan avulla. Solun spesifiset pinta-antigeenit voidaan määrittää fluoresenssin avulla. Tästä käytetään nimitystä immunofenotyyppitys. Kliinisessä laboratoriotyössä immunofenotyyppitystä



käytetään muun muassa leukemioiden diagnosointiin, HIV-potilaan seurantaan ja CD34-määrityksiin (Craig 2004a, 420 – 422). Virtaussytometriä käytetään myös useiden automaattisten solulaskijoiden, esimerkiksi Sysmex XE-5000™-soluautomaatin, yhtenä määrittämenetelmänä.

Virtaussytometrisessä analyysissä suspensiossa olevat solut saatetaan yksitellen virtauskammioon hydrodynaamisen fokuksinnin avulla. Tämä tarkoittaa sitä, että solususpensiota ympäröi paineistettu vaippaliuos, joka pakottaa solut virtaamaan yksi kerrallaan lasersäteeseen. Lasersäteen osuessa soluun tapahtuu valonsirontaa, joka vahvistetaan ja detektoidaan valomonistinputkien avulla. Sironneen valon aallonpituus on sama kuin lasersäteen aallonpituus. Valon sironnasta mitataan kahdesta eri suunnasta. Eteenpäin sironnassa valo korreloi solun kokoon ja sivulle sironnut valo solun sisäisiin rakenteisiin (kuvio 3). Suurista soluista sironaa enemmän valoa eteenpäin kuin pienistä soluista. Sivulle sironnassa valon voimakkuus on sitä suurempi mitä monimutkaisempi solun sisäinen rakenne on. (Craig 2004a, 420 – 421; Ryan & Felgar 2006, 28 – 29.)



KUVIO 3. Solun koon ja sisäisen rakenteen vaikutus valon sirontaan (mukailten Roche Diagnostics Oy 2009)

Fluoresoiviin leimoihin eli fluorokromeihin kiinnitetyillä spesifisillä monoklonaalisilla vasta-aineilla voidaan soluista tunnistaa pinta-antigeenejä, jotka ovat omi-

naisia tietyille solulinjoille ja kypsyyssasteille. Monoklonaaliset vasta-aineet voidaan jakaa CD-luokkiin sen mukaan, minkä antigeenin ne solusta tunnistavat. Yleisimpiä vasta-aineisiin liitettyjä fluorokromeja ovat fluoroisotiosyanaatti (FITC), fykoerytriini (PE), peridiniini-klorofylli-a-proteiini (PerCP) ja allofykosyaniini (APC). Fluorokromeina voidaan käyttää myös yhdistelmävärejä, joita ovat esimerkiksi PerCP-Cy5.5, PE-Cy5, PE-Cy7 ja APC-Cy7. (Pelliniemi & Tienhaara 2007, 134 – 135.)

Fluorokromit ovat molekyyliä, jotka eksitoituvat eli virittyvät lasersäteen kohdistuessa niihin tietyllä aallonpituudella. Useimmiten virtausytometreissä käytetään argonlaseria, jonka aallonpituus on 488 nm. Argonlaseria voidaan käyttää kolmen eri fluorokromin virittämiseen. Neljännen fluorokromin käyttö edellyttää toisen laservalonlähteen käyttöönottoa. Toisena laservalonlähteenä käytetään esimerkiksi helium- tai neonlaseria, jonka aallonpituus on 633 nm. (Craig 2004a, 421 – 422.) Lähes välittömästi eksitaation jälkeen tapahtuu emissio, jolloin viritystilä purkautuu eri fluorokromeille ominaisina aallonpituuksina. Emissiossa aallonpituus on pidempi kuin eksitaatiossa. Pidempiaaltoinen valo omaa matalamman energiatason, kun taas lyhyempiaaltoisella valolla energiataso on korkeampi. Eri fluorokromeilta emittoitunut valo detektoidaan peilien, suodattimien ja valomonistinputkien avulla. Peilien ja suodattimien tehtävänä on ohjata vain haluttu aallonpituus tietylle detektorille. (Rahman, Lane, Swindell & Bartram 2005, 9 – 10.)

#### 4.2 Reagenssit CD34-positiivisten kantasolujen määrittämisessä

FACSCalibur™-virtausytometrillä CD34-määrittämisessä käytetään BD:n valmistamaa Procount Progenitor Cell Enumeration Kit -reagenssikittiä. Reagenssikitti sisältää CD34-reagenssin, kontrollireagenssin ja BD Trucount™ -testiputket. Reagenssikittiin kuuluva CD34-reagenssi sisältää nukleiinihappoväriä, PE-leimattua rotan monoklonaalista CD34-vasta-ainetta ja PerCP-leimattua rotan monoklonaalista CD45-vasta-ainetta. (BD Procount Progenitor Cell Enumeration Kit 2006, 2.)

Tumallisten solujen DNA:n ja RNA:n värjää CD34-reagenssin nukleiinihappoväri. Tumallisia soluja ovat CD34-positiivisten kantasolujen lisäksi muut leukosyytit ja tumalliset erytrosyyttilinjan solut. Erotuksena muista leukosyyteistä CD34-positiiviset kantasolut värjäytyvät kirkkaasti, koska ne sisältävät runsaasti nukleiinihappoja. Hematopoeettiset kantasolut ilmentävät pinnallaan CD34-antigeenia, jonka PE-leimattu CD34-vasta-aine tunnistaa. Kaikki ihmisen leukosyytit ilmentävät pinnallaan CD45-antigeenia, jonka CD45-vasta-aine tunnistaa. Hematopoeettisissa kantasoluissa tämä antigeeni esiintyy heikompana, mitä sivusironnan ohella voidaan käyttää näiden solujen erottamiseen muista leukosyyteistä. (Ward ym., 6 – 7.)

Reagenssikitin kontrollireagenssi sisältää PE-leimattua IgG<sub>1</sub>-vasta-ainetta, jolle spesifistä antigeeniä ei löydy ihmisen solulinjoista. Sitä voidaan siis käyttää negatiivisena kontrollina, koska se tunnistaa CD34-vasta-aineen epäspesifisen sitoutumisen. (Ward ym., 7.) Kontrolliputkeen pipetoidaan kontrollireagenssin lisäksi näytettä saman verran kuin näyteputkeenkin. Näyteputki ja kontrolliputki määritetään rinnakkain. (CD34-positiiviset kantasolut 2009.)

Reagenssikittiin kuuluu BD:n Trucount™-putkia, joita käytetään CD34-määrittämissä. Putken pohjalla on kylmäkuivattu pelletti, joka liuetessaan vapauttaa tietyn määrän fluoresoivia helmiä. (BD Trucount Tubes 2007.) Helmien lukumäärän avulla voidaan määrittää CD34-positiivisten kantasolujen absoluuttinen määrä näytteessä (BD Procount Progenitor Cell Enumeration Kit 2006, 2). Pelletin päällä on metalliverkko, jonka tarkoitus on pitää pelletti paikoillaan putken pohjalla (Ward ym., 8).

Reagenssikitin kuuluvan kontrollireagenssin lisäksi määrittämisen toimivuutta tarkastellaan BD:n Stem Cell Control Kitin matalan ja korkean tason kontrollinäytteiden avulla. Laboratoriokeskuksessa nämä kontrollit määritetään kerran viikossa FACSCalibur™- ja FACSCanto II™-virtausytometrillä. Kontrollit määritetään vain viikkoina, joille on suunniteltu kantasolukeräys. (CD34-positiiviset kantasolut 2009.)

Erytrosyytit hajotetaan näytteestä ennen määrittämistä FACS™-lyysausliuoksen avulla (BD Procount Progenitor Cell Enumeration Kit 2006, 2). Käyttöliuos val-

mistetaan laimentamalla konsentraattia 1:10 tislattuun veteen. Näytteen mahdolliseen laimentamiseen käytetään fosfaattipuskuroitua suolaliuosta (phosphate buffered saline solution, PBS). Vaipanesteenä FACSCalibur™-virtaussytometrissä käytetään FACSToP™-vaipanestettä. (CD34-positiiviset kantasolut 2009.)

#### 4.3 Määrityksen suoritus Laboratoriokeskuksessa

Laboratoriokeskuksessa CD34-määrityksiä tehdään sekä oikean keräysajankohdan määrittämiseksi että afereesituotteen tutkimiseksi. Keräysajankohdan määrittämiseen tarvitaan 2 – 3 ml EDTA-verta, joka voidaan säilyttää huoneenlämmössä. Näyte on leimattava 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. Leimattu näyte säilytetään jääkaapissa pimeässä ja se on analysoitava 24 tunnin kuluessa leimauksesta. (CD34-positiiviset kantasolut 2009.)

Ennen CD34-määritystä näytteen leukosyyttitaso tulee määrittää Sysmex XE-5000™ -soluautomaatilla. Näyte laimennetaan PBS-laimennusliuoksella, jos leukosyyttiarvo on yli  $50 \times 10^9/l$ . Laimennuksen jälkeen leukosyyttiarvon tulee olla alle  $40 \times 10^9/l$ . Määritystä ei tehdä, jos leukosyyttiarvo on aikuisilla alle  $1.0 \times 10^9/l$  tai lapsilla alle  $0.8 \times 10^9/l$ . Leukosyyttiarvoa tarvitaan myös CD45-solujen ja leukosyyttien suhteen laskemiseksi. Suhteen tulee olla 0.85 – 1.15, jotta määrittäminen on hyväksyttävä. (CD34-positiiviset kantasolut 2009.)

#### Näytteen leimaaminen

Määritykseen tarvitaan kaksi Trucount™-putkea, CD34- ja kontrolliputki. Aluksi pipetoidaan CD34-putkeen 20 µl CD34-reagenssia ja kontrolliputkeen 20 µl kontrollireagenssia. Tämän jälkeen kumpaankin putkeen pipetoidaan 50 µl hyvin sekoitettua näytettä (taulukko 1, sivu 29). Pipetoinnit tulee suorittaa elektronisella pipetilla käänteistä pipetointimenetelmää käyttäen ja varoen koskettamasta putken pohjalla olevaan pellettiin. (CD34-positiiviset kantasolut 2009; BD Procount Progenitor Cell Enumeration Kit 2006, 5 – 6.)

Pipetointien jälkeen putkiin lisätään korkit ja putkia sekoitetaan putkisekoittimella kevyesti. Tämän jälkeen putkia inkuboidaan 15 minuuttia pimeässä ja huoneenlämpötilassa. Inkuboinnin jälkeen putkiin lisätään 450 µl lyysausliuosta punasolujen hajottamiseksi ja sekoitetaan putkisekoittimella kevyesti. Lyysausliuoksen lisäämisen jälkeen putkia inkuboidaan vielä 30 minuuttia pimeässä huoneenlämmössä. (CD34-positiiviset kantasolut 2009; BD Procount Progenitor Cell Enumeration Kit 2006, 5 – 6.)

TAULUKKO 1. Trucount™-putkien pipetointikaavio (mukailen Ward ym., 7)

CD34-putki	Kontrolliputki
20 µl CD34-reagenssia	20 µl kontrollireagenssia
50 µl näytettä	50 µl näytettä
sekoitus kevyesti	sekoitus kevyesti
15 min inkubointi	15 min inkubointi
450 µl lyysausliuosta	450 µl lyysausliuosta
sekoitus kevyesti	sekoitus kevyesti
30 min inkubointi	30 min inkubointi

Näytteen määrittäminen ja tulosten käsittely Procount™-ohjelmalla

Ennen määrittäystä Procount™-ohjelmaan kirjoitetaan potilaan henkilötiedot, näyttemateriaali (perifeerinen veri tai afereesituote), mahdollinen laimennuskerroin ja potilaan paino. Ohjelmaan kirjoitetaan myös Trucount™-putkien eränumero ja putkien sisältämien helmien lukumäärä sekä reagenssikitin eränumero. Näyte sekoitetaan kevyesti putkisekoittimella ennen määrittäystä ja käynnistetään näytteen ajo. Laite kerää näytteestä 500 tapahtumaa. Tapahtumalla tarkoitetaan yhden solun kulkua lasersäteeseen, mistä muodostuu piste kaksikulotteiseen koordinaatistoon solun ominaisuuksien perusteella. (CD34-positiiviset kantasolut 2009.)

Tapahtumien avulla laite määrittää niin sanotun debris-alueen, joka sisältää hajooneita punasoluja ja trombosyyttejä. Laitteen määrittämä debris-alue voidaan hyväksyä tai se voidaan rajata manuaalisesti. (CD34-positiiviset kantasolut

2009.) Debris-alueen määrittämisen jälkeen laitteella kerätään näytteestä vähintään 60000 CD45-tapahtumaa ja 1000 Trucount™-helioiden tapahtumaa. (BD Procount Progenitor Cell Enumeration Kit 2006, 8.) Kaksiulotteiselta kuvaajalta tarkastellaan CD34-soluja eri tekijöiden suhteen. Nämä solut näkyvät omalla alueellaan punaisina (liite 2). Laite ehdottaa CD34-alueiden rajaukset, mutta niitä muokataan vielä manuaalisesti alueen tarkentamiseksi (Kempfi 2010.)

## 5 KANTASOLUMÄÄRITYS SYSMEX XE-5000™ -SOLUAUTOMAATILLA

Sysmex XE-5000™ on automaattinen hematologian analysaattori (kuva 3), jolla on mahdollista määrittää yhteensä 67 erilaista parametria näytemateriaalista riippuen. Näytemateriaalina voidaan käyttää kokoverta ja kehon muita nesteitä, kuten likvoria tai nivelnestettä. Sysmex XE-5000™-soluautomaatilla on mahdollista määrittää myös hematopoeettisia kantasoluja (HPC). (Sysmex XE-5000™ Instructions for use 2007, 1:1, 1:5.)



KUVA 3. Sysmex XE-5000™ -soluautomaatti (Jokinen & Määttänen 2010)

Laboratoriokeskuksessa on käytössä kolme Sysmex XE-5000™-soluautomaattia, joita käytetään veren ja luuydinaspiraatin analysointiin (Torkki 2010). Paattiniemen (2010) mukaan HPC-määrittystä ei ole evaluoitu Suomessa Sysmex XE-5000™-soluautomaatilla (Paattiniemi 2010). Sysmex XE-5000™-laitetta ei vielä käytetä Laboratoriokeskuksessa kantasolu- eli HPC-määrittelyssä. Tässä opinnäytetyössä selvitetään, voisiko Sysmex XE-5000™-soluautomaattia hyödyntää kantasolumäärittelyssä kantasolukeräystä suunniteltaessa.

## 5.1 Mittauskanavat ja määrittymenetelmät

Laitteella on käytössä neljä eri mittausmenetelmää, joita käytetään seitsemällä eri mittauskanavalla (taulukko 2). Kantasolu- eli HPC-määritykset Sysmex XE-5000™ -soluautomaatti määrittää IMI-kanavalla (immature information), jossa mittaukseen käytetään radioaaltoja (radio frequency, RF) ja tasavirtaa (direct current, DC). Tästä käytetään nimitystä radioaalto- ja tasavirtadetektio (RF/DC). (Sysmex XE-5000™ Instructions for use 2007, 1:1.) Radioaalto- ja tasavirtadetektiön lisäksi HPC-määrittäminen perustuu solukalvojen erilaisiin lipidikoostumuksiin (Yang, ym. 2009, 3). Virtaussytometriä käytetään WBC/BASO-, NRBC-, DIFF- ja RET/PLT-O-kanavilla. Virtaussytometriä periaate on esitelty kappaleessa neljä. Fotometrinen SLS- (natriumlaurylsulfaatti) menetelmää käytetään HGB- (hemoglobiini) kanavalla. Tasavirtadetektiota käytetään mittausperiaatteena RBC/PLT-kanavalla. (Sysmex XE-5000™ Instructions for use 2007, 1:1.) Opin näytetyössä keskitytään IMI-kanavan mittausperiaatteiden kuvaamiseen, koska kantasolut määritetään tällä kanavalla.

TAULUKKO 2. Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin mittauskanavat, mittausperiaatteet ja parametrit (mukailten Roche Diagnostics Oy 2009)

Mittauskanava	Mittausperiaate	Parametrit
WBC/BASO	Virtaussytometria	Leukosyyttien kokonaismäärä ja basofiilit
NRBC	Virtaussytometria	Tumalliset erytrosyytit
DIFF	Virtaussytometria	Lymfosyytit, monosyytit, eosinofiilit ja neutrofiilit
RET/PLT-O	Virtaussytometria	Retikulosyytit ja optiset trombosyytit
IMI	Radioaalto- ja tasavirtadetektio	Epäkypsät leukosyytit ja hematopoeettiset kantasolut
HGB	Fotometrinen SLS/ natriumlaurylsulfaattimenetelmä	Hemoglobiini ja punasoluindeksit MCH, MCHC, MCV
RBC/PLT	Tasavirtadetektio	Erytrosyytit, hematokriitti, trombosyytit, punasolujen ja trombosyyttien kokojakauma



## 5.2 Hematopoeettisten kantasolujen määrittäminen

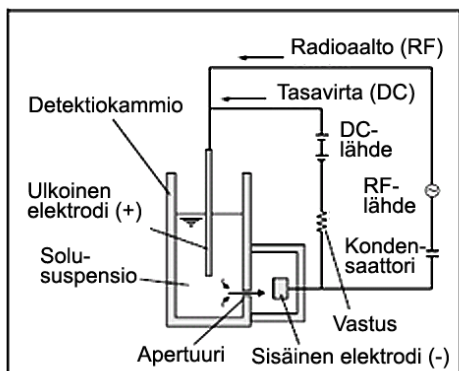
Epäkypsistä granulocyteista (IG), kypsistä leukocyteista ja hematopoeettisista kantasoluista (HPC) saadaan tietoa IMI-kanavan avulla (taulukko 2, sivu 32). Näytteeksi HPC-määrittämiseen tarvitaan 1 ml EDTA-kokoverta. Hematopoeettisten kantasolujen määrittämisessä näyte on aspiroitava manuaalipuolelta HPC-moodissa, joka on valittava erikseen keskusyksiköstä. Manuaalipuolelta ajettuna laite ottaa näytettä 130 µl. (Sysmex XE-5000™ Instructions for use 2007, 6:13, 6:27-28.)

Aspiroinnin jälkeen näyte kulkeutuu näytteenjakoventtiiliin, jossa 2,4 µl näytettä laimennetaan STROMATOLYSER-IM-lyysausliuoksella suhteessa 1:250. Tämän jälkeen laimennettu näyte kulkeutuu IMI-detektiokammioon, jossa lyysausreaktio tapahtuu 13 sekunnissa. (Sysmex XE-5000™ Instructions for use 2007, 11:20.) Lyysausliuos hemolysoi erythrocyteit ja hajottaa kypsien leukocyteiden solukalvot jättäen jäljelle vain tumat. Epäkypsät granulocyteit, mukaan lukien hematopoeettiset kantasolut, kutistuvat vain hiukan. (Roche Diagnostics Oy 2009.) Lyysaus perustuu solukalvojen erilaisiin lipidikoostumuksiin. Kypsien solujen solukalvot sisältävät enemmän lipidejä kuin epäkypsien. Lyysausliuos hajottaa lipidejä, jolloin kypsien solujen solukalvot hajoavat helpommin. (Yang, ym. 2009, 3.)

## 5.3 Radioaalto- ja tasavirtadetektio

Sysmex XE-5000™ -soluautomaatti käyttää radioaalto- ja tasavirtadetektioita IMI-kanavan mittausperiaatteena. Apertuuri eli mitta-aukko sijaitsee IMI-detektiokammion sisällä ja apertuurin kummallakin puolella on elektrodit. Elektrodien välillä kulkee tasavirtaa ja radioaaltoja (kuviokuva 4, sivu 34). Solulaimennos kulkee mitta-aukon läpi, jolloin tasavirran resistanssissa ja radioaaltojen resistanssissa tapahtuu muutoksia. (Sysmex XE-5000™ Instructions for use 2007, 11:11.) Tietoa solun koosta saadaan tasavirran resistanssin muutosten avulla. Mitä suurempi solu, sitä enemmän virran kulku estyy eli resistanssi kasvaa. Radioaaltojen avulla saadaan tietoa solun sisäisistä rakenteista, kuten tumasta ja granulaarisuudesta. Epäkypsissä soluissa solun rakenne on yksinkertaisempi

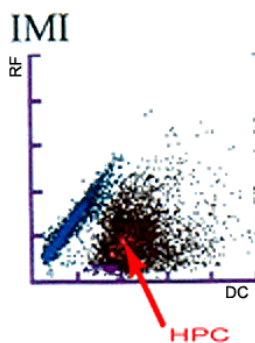
kuin kypsissä soluissa. Mitä epäkypsempi solu on, sitä vähemmän radioaallon kulku estyy ja radioaallon muutos on pienempi. (Yang ym. 2009, 3; Roche Diagnostics Oy 2009.)



KUVIO 4. RF/DC-mittausperiaate (mukaillen Sysmex XE-5000™ Instructions for use 2007, 11:11)

#### 5.4 Kantasolumääritysten tarkastelu

Hematopoeettiset kantasolut (HPC) näkyvät omalla alueellaan punaisena IMI-kanavan kuvaajassa ja muut epäkypsät solut ruskeanpunaisina. Hajonneiden erytrosyyttien ja leukosyyttien jäänteet näkyvät kuvaajassa tummansinisinä (kuvio 5). (Sysmex XE-5000™ Instructions for use 2007, 6-28.) Hematopoeettisia kantasoluja määritettäessä tulostuvat myös muiden kanavien kuvaajat eli laite määrittää samalla myös muut täydellisen verenkuvan parametrit (liite 3). Tulokset voidaan ilmoittaa absoluuttisina arvoina (HPC#) tai prosenttiosuuksina (HPC%). Jos näytettä ei ole ajettu HPC-moodissa, HPC-arvot eivät tulostu (Sysmex XE-5000™ Instructions for use 2007, 6:28).



KUVIO 5. Malliesimerkki IMI-kanavan kuvaajasta

## 6 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄ

Opinnäytetyön tavoitteena on Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorion toiminnan kehittäminen CD34-positiivisten kantasolujen määritysten osalta. Taustalla on myös pyrkimys kustannustehokkuuteen. Omana tavoitteenamme on lisätä tietämystämme autologisista kantasolusiirroista ja koko prosessista keräysajankohdan määrittämisestä kantasolusiirtoon.

Opinnäytetyön tarkoituksena on vertailla Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin ja FACSCalibur™-virtaussytometrin antamia hematopoeettisten kantasolujen määritystuloksia. Määritystuloksia pyrimme havainnollistamaan erilaisin tilastollisin ja graafisin menetelmin.

Opinnäytetyön tehtävänä on selvittää:

1. Mitä CD34-positiiviset hematopoeettiset kantasolut ovat ja miksi niitä tutkitaan?
2. Miten autologiset kantasolusiirrot toteutetaan ja minkäläisten sairauksien hoidossa niitä käytetään?
3. Mitkä ovat vertailussa käytettävien laitteiden määritys- ja toimintaperiaatteet?
4. Onko laitteiden antamissa kantasolujen määritystuloksissa eroja ja miten ne eroavat?

Samankaltaisia tutkimuksia on tehty myös aikaisemmin. Muun muassa Ranskassa (Letestu ym. 2007, Lefrère ym. 2007), Yhdysvalloissa (Padmanabhan ym. 2009) ja Taiwanissa (Yang ym. 2009) on tehty määritystulosten vertailua, mutta käytettävät laitteet ovat näissä kolmessa tutkimuksessa olleet FACSCalibur™-virtaussytometri ja Sysmex XE-2100™ -soluautomaatti. Suomessa vastaavanlainen tutkimus on tehty opinnäytetyönä (Rintala 2007) Turun ammatti- korkeakoulussa edellä mainituilla laitteilla. Edellä mainittujen tutkimusten tulokset ovat olleet keskenään samansuuntaisia. Näitä käsitellään tarkemmin opinnäytetyön tulosten johtopäätösten yhteydessä.

## 7 TUTKIMUSMENETELMÄ

Tutkimuksia voidaan jaotella eri perusteilla. Yksi tapa on jaotella tutkimukset teoreettisiin ja empiirisiin tutkimuksiin. Teoreettisessa tutkimuksessa ilmiötä tarkastellaan ainoastaan olemassa olevan empiirisen ja/tai teoreettisen tiedon perusteella. Empiirisessä tutkimuksessa ilmiötä tarkastellaan kokeellisesti tai havainnoimalla ja mittaamalla jotakin kohdetta. (Koivula, Suihko & Tyrväinen 2003, 15; Teirilä & Jyväsjärvi 2001, 12.) Empiiristä tutkimusta ei kuitenkaan voida tehdä ilman teoriatietoa, koska sitä tarvitaan tulosten käsittelyssä ja tulkinassa. (Koivula ym. 2003, 16.)

Empiirisen tutkimuksen tutkimusote voi olla kvalitatiivinen eli laadullinen tai kvantitatiivinen eli määrällinen. Kvalitatiivisessa tutkimuksessa tutkimus rajoittuu pieneen määrään harkinnanvaraisesti valittuja tapauksia, jotka analysoidaan tarkasti. Kvalitatiivisissa tutkimuksissa ei pyritä tekemään tilastollisia yleistyksiä. Kvantitatiivisesta tutkimuksesta voidaan käyttää nimeä tilastollinen tutkimus, koska sen avulla voidaan selvittää lukumääriä ja prosentiosuuksia. Tuloksia voidaan havainnollistaa taulukoiden ja kuvioiden avulla. (Heikkilä 2008, 16.)

Tilastolliseen tutkimukseen vaaditaan riittävän suuri ja edustava otos perusjoukosta (Heikkilä 2008, 16). Perusjoukolla tarkoitetaan kohdejoukkoa, josta voidaan tehdä päätelmiä tutkimuksen avulla. Otos valitaan perusjoukosta jotakin otantamenetelmää käyttäen. Otoksen tulisi olla ominaisuuksiltaan mahdollisimman samankaltainen kuin perusjoukko. Vertailevan tutkimuksen päätavoitteena on vertailla samanlaisia ihmistä tai luontoa koskevia ilmiöitä kahden tai useamman tutkimuskohteen avulla. Vertailevassa tutkimuksessa tuodaan esille tutkimuksen kohteena olevien asioiden välisiä eroja. (Vilkkä 2007, 21, 51.)

Tutkimuksen luotettavuutta voidaan tarkastella reliabiliteetin ja validiteetin avulla. Reliabiliteetilla tarkoitetaan mittaustulosten toistettavuutta eli mittauksen kykyä antaa ei-sattumanvaraisia tuloksia. Tutkimuksen voidaan sanoa olevan reliabeeli, jos esimerkiksi kaksi tutkijaa päätyvät samaan lopputulokseen. Validiteetilla voidaan kuvata tutkimuksen kykyä mitata juuri sitä, mitä alun perin oli tarkoituskin mitata. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2008, 226.)

Opinnäytetyömme tutkittava aineisto saadaan empiirisen tutkimuksen avulla määrittämällä hematopoeettisten kantasolujen määrää Sysmex XE-5000™ -soluautomaatilla ja FACSCalibur™-virtaussytometrillä. Tutkimuksen perusjoukko on kaikki Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorioon saapuvat näytteet, joista on pyydetty kantasolumääritys (B-SC). Otos koostuu tietyllä aikavälillä määritettävistä näytteistä. Hematopoeettisia kantasoluja määritetään kahdella analysaattorilla ja tuloksia vertaillaan keskenään. Tuloksia käsitellään tilastollisesti ja havainnollistetaan taulukoin ja kuvioin. Näin ollen opinnäytetyömme voidaan sanoa kuuluvan empiirisen ja vertailevan tutkimuksen piiriin, jolla on kvantitatiivinen tutkimusote.

## 8 TUTKIMUKSEN LÄHTÖKOHDAT JA TOTEUTUS

Opinnäytetyön aihe saatiin Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksesta hematologian laboratorion laboratorionhoitaja Pirkko Sirolta syyskuussa 2009. Opinnäytetyöprosessi alkoi syyskuussa 2009 tiedonhaulla ja opinnäytetyösuunnitelmalla, joka saatiin valmiiksi marraskuussa 2009. Sopimus opinnäytetyöstä kirjoitettiin joulukuussa 2009 ja tutkimuslupa saatiin Laboratoriokeskuksen henkilöasiain päällikkö Eija Salo-Lievoselta 22.12.2009.

Tutustuaksemme opinnäytetyön aiheeseen ja vertailussa käytettäviin laitteisiin kävimme vierailulla laboratorion tiloissa lokakuussa 2009. Maaliskuussa ja huhtikuussa 2010 tutustuimme kantasolutoimintaan seuraamalla kantasolutuotteen käsittelyä kantasolulaboratoriossa sekä kantasolusiirteen palauttamista potilaalle osastolla.

Laboratoriokeskuksen FACSCalibur™-virtausytometrillä ja Sysmex XE-5000™-soluautomaatilla työskentelevät laboratorionhoitajat alkoivat kerätä kantasolumääritysten tuloksia opinnäytetyötä varten marraskuussa 2009. Tuloksia kerättiin huhtikuun loppuun 2010, jotta otoskoko olisi mahdollisimman suuri tilastollista käsittelyä varten. Lopulliseksi otoskooksi muodostui 51 näytettä. Otos sisälsi vain ne näytteet, joista oli tulos sekä FACSCalibur™-virtausytometriltä että Sysmex XE-5000™-soluautomaatilta. Laboratoriokeskuksessa kantasolumäärittystä ei tehdä FACSCalibur™-virtausytometrillä leukosyyttiä ollessa aikuisilla alle  $1 \times 10^9/l$  ja lapsilla alle  $0,8 \times 10^9/l$ . Tällaisissa tilanteissa näytteitä oli kuitenkin määritetty Sysmex XE-5000™-soluautomaatilla, tosin näitä tuloksia ei voitu hyödyntää vertailussa virtausytometrin tuloksen puuttuessa. Yhteensä tällaisia näytteitä oli 14 kappaletta. Lisäksi kuuden näytteen kohdalla Sysmex XE-5000™-soluautomaatin kantasolutulos puuttui potilastulosteesta, mikä pienensi otoskoko.

Hematologian laboratorioon tulee CD34-määrittäjiä suhteellisen harvoin. Tästä syystä emme voineet itse osallistua määrittäjätekoon, vaan laitteilla työskentelevät perehdytyksen saaneet laboratorionhoitajat määrittivät näytteet ja keräsivät potilastulosteet kansioihin. Sysmex XE-5000™-soluautomaatin vastuunhoita-

ja Ilkka Kaakkolahti laati soluautomaatilla työskenteleville laboratoriohoitajille ohjeistuksen (liite 4) kantasolumäärityksestä ja -tulosten keräämisestä, jota tuli noudattaa. Määrityksiin ei tarvittu ylimääräistä näyteputkea, jolloin erillistä lupaa ei tarvittu. Määritykset suoritettiin ensin Sysmex XE-5000™ -soluautomaatilla kolmena rinnakkaisena mittauksena ja välittömästi tämän jälkeen FACSCalibur™-virtaussytometrillä yhtenä kertamittauksena.

FACSCalibur™-virtaussytometrillä potilasnäytteen rinnalla määritettiin aina negatiivinen kontrolli, jonka tarkoitus on tunnistaa CD34-vasta-aineen epäspesifinen sitoutuminen. FACSCalibur™-virtaussytometrillä määritettiin lisäksi matalan ja korkean tason positiiviset kontrollit niinä viikkoina, joille oli suunniteltu kantasolukeräys. Kaakkolahden (2010) mukaan Sysmex XE-5000™ -soluautomaatille ei ole olemassa omaa HPC-kontrollia, sillä menetelmä ei ole käytössä. Päivittäin määritetään kuitenkin laitteen oma kontrolli E-CHECK (XE) ja neljän tunnin välein B-Trol Plus 1 Control. (Kaakkolahti 2010.) Näillä kontroleilla varmistettiin laitteen kokonaisvaltainen toimivuus.

Kantasolumääritysten tulokset luettiin potilastulosteista erityistä huolellisuutta noudattaen. Kummatkin opinnäytetyön tekijät varmistivat oikean näytteenumeron ja määrityksen päivämäärän tuloksia kirjatessa. Tulokset kirjattiin potilastulosteista taulukkoon (liite 5), josta tulokset siirrettiin Microsoft® Office Excel -taulukkoon. Potilastulokset numeroitiin taulukkoon juoksevilla numeroilla anonymiteetin säilyttämiseksi. Henkilötietoja sisältäviä potilastulosteita ei viety missään vaiheessa laboratorion ulkopuolelle.

## 9 TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

Tutkimusaineisto koostuu 51 näytteen tuloksista (liite 5), joista on tehty perifeerisen veren kantasolumääritys sekä FACSCalibur™-virtaussytometrillä että Sysmex XE-5000™ -soluautomaatilla. Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin rinnakkaisista tuloksista laskettiin keskiarvot, joita käytettiin tulosten vertailussa. Sysmex XE-5000™ -soluautomaatti ilmoittaa HPC-tulokset yksikössä  $10^3/\mu\text{l}$ , kun taas FACSCalibur™-virtaussytometrillä CD34-tulokset ilmoitetaan yksikössä  $10^6/\text{l}$ . Tulosten vertailun helpottamiseksi Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin tulokset muunnettiin samaan muotoon FACSCalibur™-virtaussytometrin tulosten kanssa. Tuloksia on käsitelty Microsoft® Office Excel -ohjelmassa tilastollisen analyysin suorittamiseksi ja niitä on havainnollistettu kuvioden avulla. Tilastollisessa analyysissä on käytetty korrelaatiokerrointa ja regressiosuoraa lineaarisen riippuvuuden toteamiseen.

### 9.1 Tutkimusaineiston analyysimenetelmät

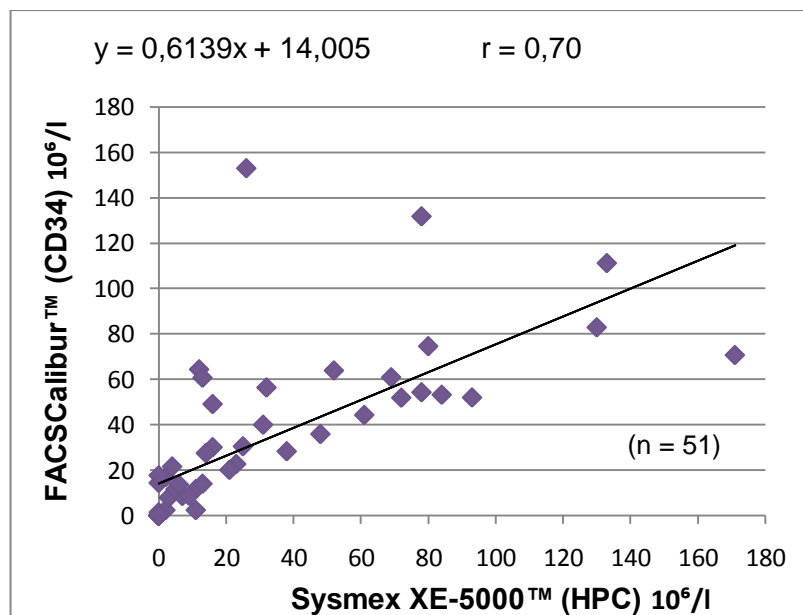
Tilastollista riippuvuutta voidaan tarkastella hajontakuvion avulla, jossa havaintoarvot piirretään koordinaatistoon. Tällöin toinen muuttuja on koordinaatistossa x-akselilla ja toinen y-akselilla. Havaintopisteiden sijainnin perusteella voidaan päätellä, esiintyykö arvoissa säännönmukaisuutta vai ovatko pisteet koordinaatistossa täysin satunnaisesti. (Karjalainen 2004, 105.) Korrelaatiokertoimen avulla voidaan selvittää kahden muuttujan välistä lineaarista riippuvuutta. Korrelaatiokertoimesta puhuttaessa tarkoitetaan useimmiten Pearsonin korrelaatiokerrointa,  $r$ . Korrelaatiokertoimen arvo vaihtelee  $-1:n$  ja  $1:n$  välillä. (Heikkilä 2008, 90 – 91.) Korrelaatiokertoimen ollessa  $> 0$  kahden muuttujan välillä on positiivinen korrelaatio. Tällöin toisen muuttujan arvon kasvaessa toinenkin kasvaa. Negatiivisessa korrelaatiossa toisen muuttujan arvon kasvaessa toinen pienenee. Tällöin korrelaatiokerroin on  $< 0$ . Kun lineaarista riippuvuutta ei ole, korrelaatiokertoimen arvo on 0. Korrelaatiokerrointa voidaan tulkita siten, että vahvassa korrelaatiossa korrelaatiokerroin on  $\geq 0,8$ , kohtalaisessa  $0,3 \leq r < 0,8$  ja heikossa  $< 0,3$ . (Ernvall ym. 2002, 78; Heikkilä 2008, 91.)



Jos havaintopisteet sijaitsevat säännömukaisesti koordinaatistossa ja riippuvuus on lineaarista, voidaan havaintopisteiden väliin piirtää suora. Tällaista suoraa sanotaan regressiosuoraksi, ja se voidaan piirtää samaan koordinaatistoon hajontakuvion kanssa. Suoran yhtälö on ensimmäisen asteen yhtälö, joka voidaan kirjoittaa muotoon  $y = a + bx$ . (Karjalainen 2004, 116.)

## 9.2 Tulokset

Tuloksista ( $n = 51$ ) on muodostettu hajontakuviokuva, johon on merkitty FACSCalibur™-virtaussytometrin (y-akselilla) ja Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin (x-akselilla) antamat tulokset havaintopisteinä. Kuviosta 6 nähdään, että havaintopisteet sijoittuvat melko säännömukaisesti koordinaatistossa muutamaa pistettä lukuun ottamatta. Täten riippuvuuden voidaan sanoa olevan lineaarista. Havaintoarvoista laskettu korrelaatiokerroin ( $r = 0,70$ ) osoittaa korrelaation olevan kohtalaista. Koordinaatistoon on piirretty lineaarisuutta osoittamaan regressiosuora, josta voidaan nähdä havaintopisteiden sijainti suoraan nähden.

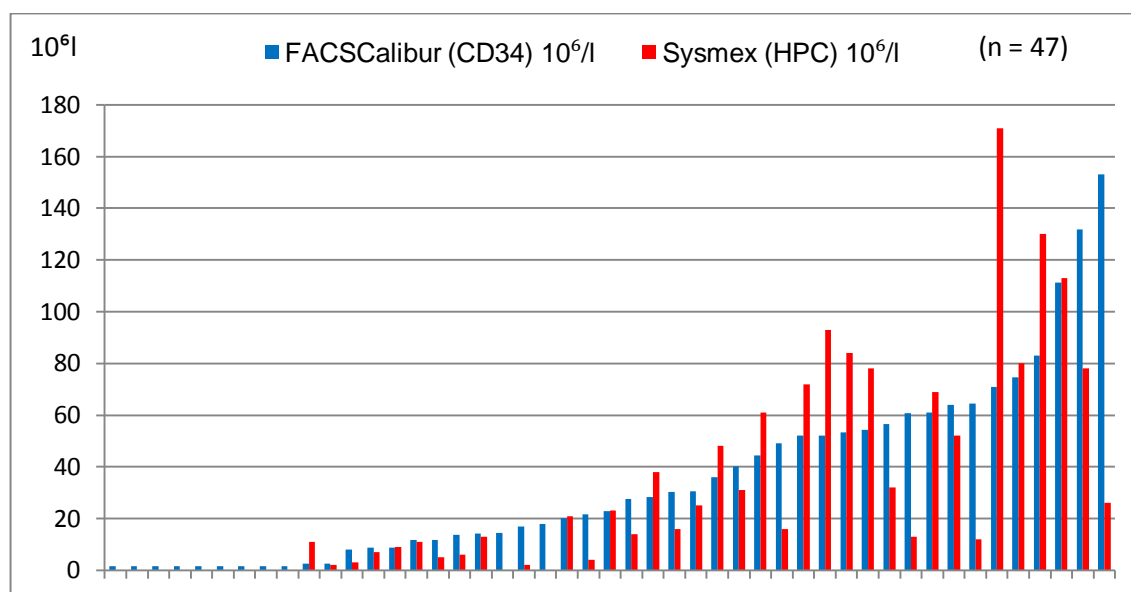


KUVIO 6. Tuloksista muodostettu hajontakuviokuva ja regressiosuora.

Kuviossa 7 sivulla 42 tulokset on esitetty havaintopareina, joista on muodostettu pylväsdiagrammi. Parit on järjestetty CD34-tuloksen mukaan suuruusjärjestyk-

seen. Kuvion tulkitsemisen helpottamiseksi kuviosta on poistettu neljä paria, joissa kumpikin laite antoi tulokseksi  $0,0 \times 10^6/l$ . Kuviosta nähdään, että FACSCalibur™-virtausytometrillä tulosten ollessa noin alle  $30 \times 10^6/l$  Sysmex XE-5000™ -soluautomaatti antaa lähes poikkeuksetta matalampia tuloksia. FACSCalibur™-virtausytometrillä yli  $30 \times 10^6/l$  tuloksilla Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin tulokset ovat suurimmassa osassa huomattavasti korkeampia, tosin kuudessa tapauksessa FACSCalibur™-virtausytometri antaa lähes kaksinkertaisia arvoja verrattuna Sysmex XE-5000™ -soluautomaattiin. Mukana on kuitenkin myös näytteitä, joiden arvot ovat lähes yhteneväisiä kummallakin laitteella mitattuna.

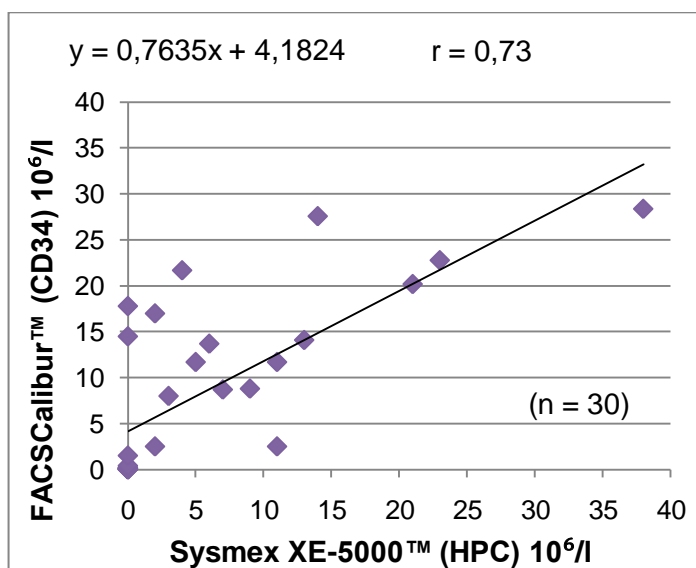
Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin antaessa tuloksen  $0,0 \times 10^6/l$  voi tulos FACSCalibur™-virtausytometrillä määritettynä olla jopa lähellä  $20 \times 10^6/l$ , jota pidetään kantasolukeräyksen aloitusrajana. Tällaisia eroja oli tosin vain kahdessa tapauksessa. FACSCalibur™-virtausytometrillä antaessa tuloksen  $0,0 \times 10^6/l$  on myös Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin antama tulos ollut aina  $0,0 \times 10^6/l$ .



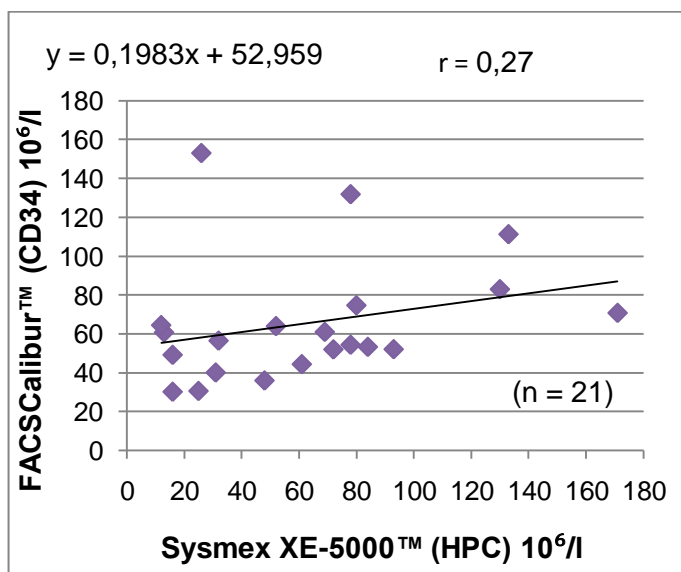
KUVIO 7. Havaintopareista muodostettu pylväsdiagrammi FACSCalibur™-virtausytometrillä antaman tuloksen mukaan..

Kuvioissa 8 ja 9 sivulla 43 tuloksia on tarkasteltu jakamalla tulokset kahteen ryhmään FACSCalibur™-virtausytometrillä antaman tuloksen mukaan. Rajaksi

on asetettu  $30 \times 10^6/l$ , koska tätä korkeammilla arvoilla laitteiden antamien tulosten väliset erot ovat selvemmin nähtävissä. Tämän voi havaita kuviossa 7. Tuloksista on muodostettu hajontakuviot ja regressiosuorat sekä laskettu korrelaatiokerroin. FACSCalibur™-virtausytometrillä antamilla tuloksilla alle  $30 \times 10^6/l$  ( $n = 30$ ) korrelaatiokerroin on 0,73, kun taas tuloksilla yli  $30 \times 10^6/l$  ( $n = 21$ ) vain 0,27. Tutkittujen näytteiden osalta tuloksilla alle  $30 \times 10^6/l$  korrelaation voidaan sanoa olevan kohtalaista ja tuloksilla yli  $30 \times 10^6/l$  heikkoa.



KUVIO 8. Hajontakuviot ja regressiosuorat FACSCalibur™-virtausytometrillä antamilla tuloksilla alle  $30 \times 10^6/l$ .



KUVIO 9. Hajontakuviot ja regressiosuorat FACSCalibur™-virtausytometrillä antamilla tuloksilla yli  $30 \times 10^6/l$ .

### 9.3 Johtopäätökset

Saatujen tulosten perusteella voidaan todeta, että korrelaatio on kohtalaista ( $r = 0,70$ ), kun otetaan huomioon kaikki tulokset ( $n = 51$ ). Aikaisemmin tehtyihin vastaaviin tutkimuksiin verrattuna saamamme korrelaatiokerroin on samansuuntainen. Esimerkiksi Padmanabhanin ym. (2009) tutkimuksessa korrelaatiokertoimeksi saatiin 0,74 otoskoon ollessa 60 näytettä. Letestu ym. (2007) saivat 157 näytteellä korrelaatiokertoimeksi 0,74 ja Yang ym. (2009) 161 näytteellä korrelaatiokertoimeksi 0,50. Lefrère ym. (2007) saivat 221 näytteellä korrelaatiokertoimeksi 0,54. Rintalan (2007) opinnäytetyössä korrelaatiokerroin oli 20 näytteellä 0,77. Edellä mainitut aikaisemmat tutkimukset oli tehty vertaamalla FACSCalibur™-virtaussytometrillä ja Sysmex XE-2100™ -soluautomaatin tuloksia.

Kun tulokset on jaettu kahteen ryhmään, FACSCalibur™-virtaussytometrillä tuloksilla alle  $30 \times 10^6/l$  korrelaatio on parempi ( $r = 0,73$ ) kuin otettaessa huomioon kaikki tulokset. Yli  $30 \times 10^6/l$  tuloksilla korrelaatio laskee merkittävästi ( $r = 0,27$ ), ja sen voidaan sanoa olevan heikkoa. FACSCalibur™-virtaussytometrillä kantasolukeräyksen aloitusrajana TAYS:ssa pidetään yleisesti CD34-arvoa  $20 \times 10^6/l$ . Tämän vuoksi tuloksilla alle  $30 \times 10^6/l$  voidaan sanoa olevan enemmän merkitystä laitteiden antamien tulosten vertailussa.

Kaikki tulokset huomioon ottaen korrelaatiokerroin on kohtalainen, mutta tulosten joukossa on kaksi tapausta, joissa Sysmex XE-5000™ -soluautomaatti antaa tuloksen  $0,0 \times 10^6/l$  ja FACSCalibur™-virtaussytometri lähelle kantasolukeräyksen aloitusrajaa  $20 \times 10^6/l$ . Sysmex XE-5000™ -soluautomaattia ei ollut alun perinkään tarkoitus käyttää ainoana laitteena kantasolumäärityksissä, vaan osoittamaan kantasolujen mahdollinen nousu perifeerisessä veressä. Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin osoittaessa kantasolumäärän nousua perifeerisessä veressä olisi määrä tarkastettu vielä FACSCalibur™-virtaussytometrillä. Edellä mainituissa kahdessa tapauksessa määrittäystä ei olisi enää tehty FACSCalibur™-virtaussytometrillä, koska Sysmex XE-5000™ -soluautomaatti antoi tuloksen  $0,0 \times 10^6/l$ , eikä näin ollen osoittanut kantasolumäärän nousua.

Lefrèren ym. (2007) ja Letestun ym. (2007) mukaan Sysmex XE-2100™ -soluautomaatin HPC-määritys voisi olla luotettava keräysajankohdan määrittämiseen, jos potilaan kantasolumäärä on korkea. Matalat HPC-tulokset tulisi kuitenkin varmistaa virtausytometrin CD34-määrityksellä. Lefrèren ym. (2007) mukaan HPC-tulos on syytä varmistaa virtausytometrisesti, jos tulos on alle  $1 \times 10^6/l$ . Erityisesti tulos tulisi varmistaa, jos se on  $0,0 \times 10^6/l$ . Tässä opinnäytetyössä päädyttiin myös samaan huomioon, että Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin HPC-tulokset  $0,0 \times 10^6/l$  eivät ole luotettavia. Laboratoriokeskuksessa oli tarkoitus saada selville, voidaanko kantasolumäärän nousun alkaminen havaita Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin HPC-määrityksen avulla. Kiinnostuksen kohteina olivat erityisesti matalat kantasolumäärät ja tulokset, joissa kantasoluja ei vielä havaittu perifeerisessä veressä. Edellä mainitut tutkimukset tukevat myös tämän opinnäytetyön päätelmiä.

Mobilisaatiohoidon jälkeen kantasolut ovat koholla perifeerisessä veressä vain muutaman päivän ajan, mikä tekee kantasolumäärityksestä tärkeän potilaan jatkohoidon kannalta. Määritysmenetelmän täytyy tästä syystä olla erittäin luotettava. Pelliniemen (2010) mukaan potilaan kannalta epäluotettava kantasolutulos voisi olla kohtalokas rankkojen solunsalpaajahoitojen jälkeen, jos kantasolujen määrän nousu perifeerisessä veressä jää huomaamatta. Tällaisten yksittäisten tapausten vuoksi Sysmex XE-5000™ -soluautomaattia ei voida alkaa käyttää tämän tutkimuksen perusteella kantasolukeräyksen ajankohdan määrittämiseen, vaikka määritysmenetelmä sinänsä olisi ideaalinen päivystysaikaiseen käyttöön. (Pelliniemi 2010.)

## 10 POHDINTA

Opinnäytetyön tehtävänä oli selvittää, onko FACSCalibur™-virtausytometrillä ja Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin antamissa kantasolutuloksissa eroja. Lisäksi tehtävänä oli selvittää, miten laitteiden antamat kantasolutulokset mahdollisesti eroavat. Tehtävänä oli myös selvittää kirjallisuuden avulla CD34-positiivisten hematopoeettisten kantasolujen toimintaa ja merkitystä sekä niiden käyttöä pahanlaatuisten sairauksien tukihoidona. Opinnäytetyö oli luonteeltaan kokeellinen ja vertaileva tutkimus, minkä vuoksi oli tärkeää myös selvittää vertailussa käytettävien laitteiden määrittämis- ja toimintaperiaatteet.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli vertailla FACSCalibur™-virtausytometrillä ja Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin kantasolujen määritystuloksia, käsitellä tuloksia tilastollisin menetelmin ja havainnollistaa niitä graafisesti. Vertailtavista tuloksista laskettiin korrelaatiokerroin, piirrettiin regressiosuora sekä pylväsdiagrammi havainnollistamaan laitteiden antamien tulosten välisiä eroavaisuuksia. Opinnäytetyön tavoitteena oli kehittää Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorion toimintaa CD34-positiivisten kantasolujen määritysten osalta.

Kaikista tuloksista ( $n = 51$ ) laskettu korrelaatiokerroin  $r$  oli 0,70 ollen kohtalainen. Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin ja FACSCalibur™-virtausytometrillä saadut tulokset jaettiin kahteen ryhmään FACSCalibur™-virtausytometrillä saadun tuloksen perusteella, ja niistä laskettiin erikseen korrelaatiokerroin. FACSCalibur™-virtausytometrillä saadulla tuloksella alle  $30 \times 10^6/l$  korrelaatio oli kohtalaista ( $r = 0,73$ ), mutta hieman korkeampaa kuin kaikki tulokset mukaan ottaen. Tuloksilla yli  $30 \times 10^6/l$  korrelaatio oli heikkoa ( $r = 0,27$ ). Tuloksilla alle  $30 \times 10^6/l$  oli kuitenkin enemmän merkitystä, sillä kantasolukeräyksen alitusrajana pidetään  $20 \times 10^6/l$ .

Suhteellisen korkea korrelaatiokerroin kaikista tuloksista laskettuna ei kuitenkaan tarkoita sitä, että Sysmex XE-5000™ -soluautomaattia voitaisiin alkaa näillä perusteilla käyttää kantasolun määrityksiin Laboratoriokeskuksessa. Tutkimuksissa, joissa tutkimuskohteena ovat potilaat, on huomioitava myös yksittäiset tulokset ja niiden merkitys potilaan hoidon kannalta. Tässä tutkimuksessa täytyy

huomiota kiinnittää kahteen Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin antamaan tulokseen, joissa olisi tehty väärä hoitopäätös kantasolukeräyksen suhteen. Kantasolujen määrän nousu perifeerisessä veressä olisi jäänyt huomaamatta, jos Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin HPC-tulokseen  $0,0 \times 10^6/l$  olisi luotettu. FACSCalibur™-virtaussytometrillä määritettynä tulos oli kuitenkin lähellä kantasolujen keräysrajaa  $20 \times 10^6/l$ . Näinkin pienellä otoskoolla tällaisten tapausten esiintyminen on merkittävää. Otoskoon kasvattaminen lisäisi oletettavasti näiden tapausten määrää. Tällaisia poikkeamia ei saa määritysmenetelmässä esiintyä, koska kyseessä on ainutkertainen hoitomuoto, joka mahdollisesti pidentää potilaan elinikää merkittävästi.

Opinnäytetyön luotettavuutta eli reliabiliteettia lisäsi vertailtavilla laitteilla työskentelevien laboratoriohoitajien ammattitaitoisuus ja omalta osaltamme tulosten huolellinen kirjaaminen ja siirtäminen jokaisessa työvaiheessa. Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin osalta luotettavuutta lisäsi näytteiden määrittäminen kolmena rinnakkaismäärityksenä. Laitteilla määritettävät kontrollit varmistivat niiden toimivuuden, mikä myös tekee tutkimuksesta luotettavan. Myös muiden tutkijoiden päätyminen samansuuntaisiin tuloksiin lisää opinnäytetyön luotettavuutta. Opinnäytetyön luotettavuutta heikensi suhteellisen pieni otoskoko. Tilastollisen tutkimuksen alarajana pidetään 100 näytettä, kun tässä opinnäytetyössä lukumäärä oli 51. Suuremman otoskoon saaminen ei olisi ollut mahdollista opinnäytetyöhön varatun ajan puitteissa, sillä kantasolunäytteitä saapuu laboratorioon melko harvoin. Opinnäytetyön validiteetin voidaan sanoa olevan hyvä, sillä tutkimus on raportoitu siten, että se olisi toistettavissa.

Koimme opinnäytetyön aloittamisen hankalaksi, sillä meillä ei ollut juuri lainkaan etukäteistietoa kantasolusiirroista ja laitteiden toimintaperiaatteista. Lisäksi näitä asioita käsittelevä materiaali oli pääosin englanninkielistä. Teoriatietoon perehtymistä helpotti kuitenkin Laboratoriokeskuksen kantasolulaboratorioon ja sen toimintaan tutustuminen. Opinnäytetyön edetessä teoriatiedon hakeminen helpottui käsitteiden tultua tutuksi. Ominä tavoitteinamme opinnäytetyössä oli lisätä tietämystämme autologisista kantasolusiirroista ja koko kantasoluhoidon prosessista keräysajankohdan määrittämisestä kantasolusiirtoon. Saavutimme omat tavoitteemme hyvin, ja tietämyksemme lisääntyi myös muilla opinnäytetyöhön liittyvillä osa-alueilla.

Olemme pyrkineet käyttämään opinnäytetyössämme monipuolista ja ajantasais- ta lähdemateriaalia. Lähdemateriaalina olemme käyttäneet hematologian perus- teoksia, joista suurin osa on englanninkielisiä. Aiheeseen liittyviä artikkeleita oli paljon saatavilla sekä suomen- että englanninkielisinä. Aikaisempia aiheeseen liittyviä tutkimuksia olemme hyödyntäneet erityisesti opinnäytetyön tulososiossa. Määritysmenetelmien periaatteista saimme tietoa laitevalmistajien ohjekirjoista, esitteistä ja tuoteselosteista. Laboratoriokeskuksen ja TAYS:n kantasolukäytän- nöistä saimme tietoa toiminta- ja työohjeista sekä Pirkanmaan sairaanhoitopiirin julkaisuista. Opinnäytetyöprosessin aikana olemme kehittyneet kriittisinä tie- donhakijoina. Erityisesti kynnys käyttää englanninkielistä materiaalia on madal- tunut huomattavasti.

Jatkotutkimusaiheeksi ehdottaisimme tutkimuksen suorittamista suuremmalla otoskolla, jotta tilastollisten päätelmien teko olisi luotettavampaa. Lisäksi tutki- muksessa voitaisiin huomioida potilaan kokonaisleukosyyttiarvo ja diagnoosi, ja tutkia niiden vaikutusta Sysmex XE-5000™ -soluautomaatin HPC-tuloksiin.

Koimme opinnäytetyön aiheen mielenkiintoiseksi, ja opinnäytetyömme työelä- mälähtöisyys lisäsi entisestään mielenkiintoamme opinnäytetyötä kohtaan. Ko- keellinen ja vertaileva opinnäytetyö tuntui meistä alusta alkaen mielekkäältä, mikä myös vaikutti aihevalintaan. Opinnäytetyön luonteen vuoksi emme voineet itse tehdä kantasolumäärityksiä, mikä hieman harmitti työn alkuvaiheessa. Käy- tännön syistä tämä ei olisi ollut mahdollista. Lopuksi haluamme kiittää Laborato- riuksen hematologian laboratorion sekä automaatioryhmän henkilökuntaa yhteistyöstä opinnäytetyöprosessin aikana.



## LÄHTEET

BD FACSCalibur™ System. Flow Cytometer 2007. Becton Dickinson and Company. Kuvallinen esite.

BD Procount Progenitor Cell Enumeration Kit 2006. Becton Dickinson and Company. Käyttöohje.

BD Trucount Tubes 2007. Becton Dickinson and Company. Kuvallinen esite.

Cancer in Finland 2006 and 2007 2009. Finnish Cancer Registry. Helsinki: Cancer Society of Finland.

Craig, F. 2004a. Flow Cytometry. Teoksessa McKenzie, S. (toim.) Clinical Laboratory Hematology. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 419 – 435.

Craig, F. 2004b. Lymphoid Malignancies. Teoksessa McKenzie, S. (toim.) Clinical Laboratory Hematology. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 584 – 607.

CD34-positiiviset kantasolut verestä ja afereesituotteesta 2009. Laboratoriokeskus, hematologian laboratorio. Työohje.

Coleman, M. 2004. The Leucocyte. Teoksessa McKenzie, S. (toim.) Clinical Laboratory Hematology. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 85 – 121.

Ehsan, A. 2004. Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Teoksessa McKenzie, S. (toim.) Clinical Laboratory Hematology. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 608 – 622.

Elonen, E. & Elomaa, I. 2007. Solunsalpaajahoito. Teoksessa Joensuu, H., Roberts, P., Lyly, T. & Tenhunen, M. (toim.) Syöpätaudit. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 161 – 190.

Elonen, E. & Karjalainen-Lindsberg, M-L. 2007. Hodgkin-lymfooma. Teoksessa Joensuu, H., Roberts, P., Lyly, T. & Tenhunen, M. (toim.) Syöpätaudit. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 393 – 408.

Ernvall, R., Ernvall, S. & Kaukkila, H-S. 2002. Tilastollisia menetelmiä sosiaali- ja terveysalalle. Helsinki: WSOY.

Foon, K., Ghobrial, I., Geskin, L. & Jacobs, S. 2006. The Non-Hodgkin Lymphomas. Teoksessa Lichtman, M., Beutler, E., Kipps, T., Seligsohn, U., Kaushansky, K. & Prchal, J. (toim.) Williams Hematology. Seventh edition. New York: The McGraw-Hill Companies Inc., 1407 – 1459.

Hautamäki, K., Karhu, P., Koivunen, E., Koponen, R., Kytölinna, R., Lehtinen, T., Merikoski, M., Ollikainen, P., Pakola, I., Raukola, A., Riikonen, M. & Vähälä, H. 2003. Kantasolusiirtopotilaan hoidon kehittäminen hoitoketjun eri vaiheissa. Pirkanmaan sairaanhoitopiirin julkaisuja 9/2003. Tampere: Tampereen Yliopistopaino Oy.

Heikkilä, T. 2008. Tilastollinen tutkimus. 7. uudistettu painos. Helsinki: Edita Prima Oy.

Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2008. Tutki ja kirjoita. 13. – 14. osin uudistettu painos. Keuruu: Otava.

Howard, M. & Hamilton, P. 2008. Haematology. An illustrated colour text. Third edition. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier.

Jantunen, E. 2008a. Aikuispotilaiden autologiset kantasolusiirrot. Suomen Lääkärilehti. 63 (12-13), 1171 – 1177.

Jantunen, E. 2008b. Myelooman muuttuva hoito. Duodecim: Lääketieteellinen aikakauskirja. 124 (1) 59 – 66.

Jokinen, M. & Määttä, H. 2010. Kuvat 2 ja 3.

Kaakkolahti, I. Laboratoriohoitaja 2010. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Laboratoriokeskus. Henkilökohtainen tiedonanto sähköpostitse 21.9.2010.

Kantasolujen keräys ja palautus 2007. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Tampereen yliopistollinen sairaala. Työohje.

Kantasolusiirto 2007. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Laboratoriokeskus. Työohje.

Kantasolutuotteen käsittely, pakastus ja säilytys 2008. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Laboratoriokeskus. Työohje.

Kantasoluviljely (perifeerinen veri, luuydin ja afereesituote) 2008. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Laboratoriokeskus. Työohje.

Karjalainen, L. 2004. Tilastomatematiikka. Mikkeli: Pii-Kirjat.

Kemppi, R. Laboratoriohoitaja 2010. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Laboratoriokeskus. Henkilökohtainen tiedonanto 22.7.2010.

Koivula, U-M., Suihko, K. & Tyrväinen, J. 2003. Mission: Possible. Opas opin näytteen tekijälle. Pirkanmaan ammattikorkeakoulun julkaisusarja C. Oppimateriaalit. Nro. 1. 2. uudistetun painoksen lisäpainos. Tampere: Pirkanmaan ammattikorkeakoulu.

Kotylo, P. 2002. Lymphoproliferative Disorders. Teoksessa Rodak, B. (toim.) Hematology. Clinical Principles and Applications. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 491 – 510.

Laatujärjestelmän yleiskuvaus 2008. Tampereen yliopistollisen sairaalan kantasolusiirtotoiminnan laatujärjestelmän yleiskuvaus. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri.

Laboratoriokeskus 2010. Tilastot autologisista kantasolusiirroista. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri.

Lefrère, F., Zohar, S., Beaudier, S., Audat, F., Ribeil, J-A., Ghez, D., Varet, B., Cavazzana-Calvo, M., Dal Cortivo, L., Letestu, R., McIntyre, E. & Brouzes, C. 2007. Evaluation of an algorithm based on peripheral blood hematopoietic progenitor cell and CD34+ cell concentrations to optimize peripheral blood progenitor cell collection by apheresis. *Transfusion* 47 (10) 1851 – 1857.

Letestu, R., Marzac, C., Audat, F., Belhocine, R., Tondeur, S., Baccini, V., Garçon, L., Dal Cortivo, L., Perrot, J-Y., Lefrère, F., Valensi, F. & Ajchenbaum-Cymbalista, F. 2007. Use of hematopoietic progenitor cell count on the Sysmex XE-2100 for peripheral blood stem cell harvest monitoring. *Leukemia & Lymphoma* 48 (1), 89 – 96.

McKenna, R., Kyle, R., Kuehl, W., Grogan, T., Harris, N. & Coupland, R. 2008. Plasma cell neoplasms. Teoksessa Swerdlow, S., Campo, E., Lee Harris, N., Jaffe, E., Pileri, S., Stein, H., Thiele, J. & Vardiman, J. (toim.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Fourth edition. Lyon: IARC, 200 – 213.

MedWOW™ 2010. COBE Spectra Manufacturer Specifications. Saatavilla [www-muodossa](http://www.muodossa.com): <http://www.medwow.com>. Luettu 2.6.2010. Kuva 1.

Negrin, R. & Blume, K. 2006. Principles of hematopoietic cell transplantation. Teoksessa Lichtman, M., Beutler, E., Kipps, T., Seligsohn, U., Kaushansky, K. & Prchal, J. (toim.) Williams Hematology. Seventh edition. New York: The McGraw-Hill Companies Inc., 301 – 322.

Oivanen, P. & Sinisalo, R. 2009. Myelooma. Lääkärin käsikirja. Saatavilla [www-muodossa](http://www.muodossa.com): <http://www.terveysportti.fi>. Luettu 24.4.2010.

Paattiniemi, E-L. 2010. Roche Diagnostics Oy. Henkilökohtainen tiedonanto sähköpostitse 25.3.2010.

Padmanabhan, A., Reich-Slotky, R., Jhan, J., Dael, S., Crowder, T., Colovai, A. & Schwartz, J. 2009. Use of the haematopoietic progenitor cell parameter in optimizing timing of peripheral stem cell harvest. *Vox Sanguinis* 97 (2), 153 – 159.

Pelliniemi, T-T. Hematologian erikoislääkäri 2010. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Laboratoriokeskus. Henkilökohtainen tiedonanto 16.9.2010.

Pelliniemi, T-T. & Tienhaara, A. 2007. Leukemioiden immunofenotyypitys. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 134 – 144.

Perkkiö, M. 2007. Lasten lymfoomat. Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 631 – 637.

Pirkanmaan sairaanhoitopiiri 2003. Kehitysprojekti K5113. Kantasolusiirtopotiilaan hoitokäytäntöjen kehittäminen ja yhtenäistäminen. Kantasolusiirtotoiminnan akkreditointi. Tampereen yliopistollisen keskussairaalan kantasolusiirtotoiminta.

Rahman, M., Lane, A., Swindell, A. & Bartram, S. 2005. Introduction to Flow Cytometry. Kidlington: Serotec Ltd.

Remes, K. 2007. Multippeli myelooma ja muut gammapatiat. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 454 – 480.

Rintala, S. 2007. Veren kantasolujen määritysmenetelmien vertailu. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Turku: Turun ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyö.

Roche Diagnostics Oy 2009. XE-5000: rakenne, mittausperiaatteet ja parametrit -diaesitys. 10.2.2009.

Ruutu, T. 2007. Kantasolujen siirrot veritautien hoidossa. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 492 – 503.

Ryan, D. & Felgar, R. 2006. Examination of the marrow. Teoksessa Lichtman, M., Beutler, E., Kipps, T., Seligsohn, U., Kaushansky, K. & Prchal, J. (toim.) Williams Hematology. Seventh edition. New York: The McGraw-Hill Companies Inc., 21 – 31.

Salmi, M. & Jalkanen, S. 2007. Leukosyyttiantigeenit: CD-järjestelmä. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. & Valtonen, V. (toim.) Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 673 – 674.

Siitonen, T. & Koistinen, P. 2007. Verisolujen tuotanto ja sen säätely. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 16 – 31.

Siro, P. Laboratoriohoitaja 2009. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Laboratoriokeskus. Henkilökohtainen tiedonanto 12.10.2009.

Siro, P. Laboratoriohoitaja 2010. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Laboratoriokeskus. Henkilökohtainen tiedonanto 1.6.2010.

Solujen viabiliteetti (Trypan blue exclusion test) 2005. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Laboratoriokeskus. Työohje.

Sysmex XE-5000™ Instructions for use 2007. Japan: Sysmex Corporation.

Teerenhovi, L., Franssila, K., Lehtinen, T. & Jyrkkiö, S. 2007. Non-Hodgkin-lymfoomat. Teoksessa Joensuu, H., Roberts, P., Lyly, T. & Tenhunen, M. (toim.) Syöpätaudit. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 607 – 638.

Teerenhovi, L. & Karjalainen-Lindsberg, M-L. 2007. Non-Hodgkin-lymfoomat. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 409 – 442.

Teirilä, M. & Jyväsjärvi, E. 2001. Tutkielmantekijän työkirja. Helsinki: Oy Finn Lectura Ab.

Torkki, M-L. 2010. Laboratoriohoitaja. Henkilökohtainen tiedonanto. 6.9.2010.

Turgeon, M. 2004. Clinical Hematology. Theory and Procedures. Fourth edition. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.

Valo, H. Laboratoriohoitaja 2010. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Laboratoriokeskus. Henkilökohtainen tiedonanto 14.4.2010.

Vilka, H. 2007. Tutki ja mittaa. Määrällisen tutkimuksen perusteet. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Vuoristo, M-S., Kellokumpu-Lehtinen, P., Ala-Luhtala, T., Kokko, R., Luostarinen, M., Nyandoto, P., Ojala, A. & Salmo, M. 2006. Tampereen yliopistollisen sairaalan erityisvastuualueen onkologinen hoito-ohjelma. Pirkanmaan sairaanhoitopiirin julkaisuja 3/2006. Tampere: Pirkanmaan sairaanhoitopiirin kuntayhtymä.

Wallace, M. 2002. Hematopoietic Theory. Teoksessa Rodak, B. (toim.) Hematology. Clinical Principles and Applications. Philadelphia: W.B Saunders Company, 63 – 79.

Ward, T., Grenier, K., Knape, C., Cadden, M., Schmidt, J. & Verwer, B. Pro-COUNT™. Setting the Standard for Progenitor Cell Enumeration.

WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 2008. Fourth edition. Lyon: IARC, 10 – 13.

Williams, J. 2004. Cellular Homeostasis and Hematopoiesis. Teoksessa McKenzie, S. (toim.) Clinical Laboratory Hematology. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 8 – 39.

Yang, S-H. Wang, T-F., Tsai, H-H., Lin, T-Y., Wen, S-H. & Chen, S-H. 2009. Preharvest hematopoietic progenitor cell counts predict CD34+ cell yields in granulocyte-colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood stem cell harvest in healthy donors. Transfusion 49 (12), 1 – 8.

LIITTEET

LIITE 1: 1 (2)

## ESIMERKKI KANTASOLUKERÄYKSEN KOONTILOMAKKEESTA

TAMPEREEN YLIOPISTOLLINEN SAIRAALA KOONTILOMAKE  
 LABORATORIOKESKUS KANTASOLUKERÄYS  
 KANTASOLULABORATORIO versio 5.2009 1(2)

## ESITIEDOT

KER. JÄRJ. NRO \_\_\_\_\_

Os \_\_\_\_\_

Nimi \_\_\_\_\_

dg MCL

Sotu \_\_\_\_\_

paino 82.3 kgMobilisaatio hoito ARA-Cpvm 16.4.-10

## VERIARVOT KERÄYSPÄIVÄN AAMUNA

B-leuk 19.0 x10E9/lhkr 0.32B- tromb 77 x10E9/lCD34 0.24 %CD34 49.20 x10E6/lL-MNS 26 %

## KERÄYS

Pvm/klo 29.4.-10 / 6.20-13.50 ohjelma COBE 2 / 15 nostoa /Vastaanottaja Leisa klo 13.45 1325ml (167ml)Tilavuus 153 mlleuk 302.7 x10E9/lTNC 463.1 x10E8TNC/kg 5.6 x10E8/kgMNC 137.5 x10E8MNC/kg 1.7 x10E8/kgMNC 29.7 %CD34 165 x10E6CD34/kg 2.0 x10E6/kgCD34 0.35 %

## KÄSITTELY

Säilytys + 4°C yön yli 

Plasmaa lisätty \_\_\_\_\_ ml

tekijä \_\_\_\_\_

4% alb lisätty \_\_\_\_\_ ml lot \_\_\_\_\_

tekijä \_\_\_\_\_

viab.seuraavana pvnä \_\_\_\_\_ %

tekijä (36)

vast.lääkäri \_\_\_\_\_

(jatkuu)

TAMPEREEN YLIOPISTOLLINEN SAIRAALA  
LABORATORIOKESKUS  
KANTASOLULABORATORIO

KOONTILOMAKE  
KANTASOLUKERÄYS  
versio 5.2009

2(2)

Nimi \_\_\_\_\_

KER. JÄRJ. NRO \_\_\_\_\_

Sotu \_\_\_\_\_

JÄÄDYTYKSEN pvm 20.4.-10Hepar. lisätty 5000 U lot \_\_\_\_\_Soluja 150 mlpusseja 5 kpl lot \_\_\_\_\_DMSO 50 ml lot \_\_\_\_\_4%ALB 207 ml lot \_\_\_\_\_TNC 0.26 x 10E6/mlyht. 500 mlCD34 0.33 x 10E6/ml

SÄILYTYS säil.lämpötila -196° C

Sijainti 1(1) 2(2) 3(3) 4(4) 5(5)testiputket 4 kpl sijainti 62b

Muuta huomioitavaa \_\_\_\_\_

tekijä 36**SIIRTEEN PALAUTUSKELPOISUUS**Kantasoluvilj. 16.9 x 10<sup>4</sup> pes / kg sulatetusta näytteestäBakt.värjäys1 neg  pos  bakt.värjäys2 neg  pos Bakt.viljely1 neg  pos  bakt.viljely2 neg  pos Poikkeamaraportti tehty/pvä  \_\_\_\_\_ ei tehty 

Kantasolusiirre on palautuskelpoinen

Ojala  
vastuulääkäri

pvm

21.5.10**SOLUJEN PALAUTUS**

1. siirto pvm/nro \_\_\_\_\_

Annettu pussit \_\_\_\_\_

tekijä \_\_\_\_\_

2. siirto pvm/nro \_\_\_\_\_

Annettu pussit \_\_\_\_\_

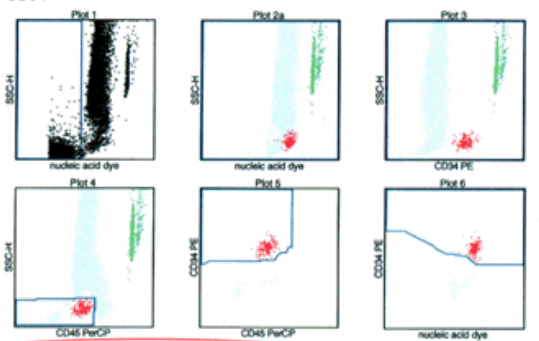
tekijä \_\_\_\_\_

FACSCalibur™-VIRTAUSSYTOTOMETRIN ESIMERKKITULOSTE

TAYS  
ProCOUNT™ Laboratory Report

Sample Name:	CD34	CD34 Reagent Lot Number:	66250
Sample ID:		TruCOUNT Lot Number:	31922
Case Number:		TruCOUNT Bead Count:	51466
Date Acquired:		Lab Director:	
Date Analyzed:		Operator:	
Sample Type:	Peripheral Blood	Cytometer:	FACSCalibur
Panel Name:	CD34	Cytometer ID:	E4469
FCS File Name:		FL1 Threshold:	240

CD34



Absolute CD34 cell count: 79.8 / $\mu$ L (CV = 8.1 %)      Dilution Factor: 1.00

CD34 cells as percent of nucleated cells:	0.275 %	Total events:	62398
CD34 cells as percent of CD45 cells:	0.278 %	Nucleated events:	60000
Absolute nucleated cell count:	25.8 $\times 10^3$ / $\mu$ L	TruCOUNT bead events:	2398
Absolute CD45 cell count:	25.5 $\times 10^3$ / $\mu$ L	CD34 events:	165
Remark:		CD45 events:	59391

INSPECT ALL DOT PLOTS. User defined CD34 region(s).

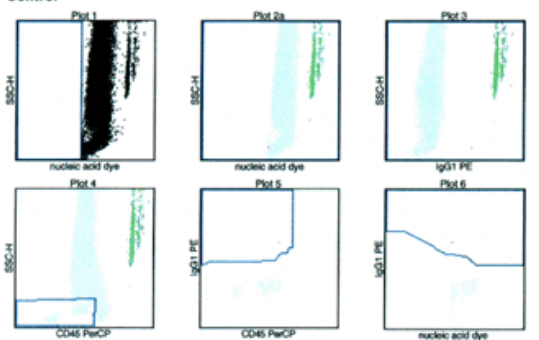
26: User defined acquisition debris region.

*sysmex: 244 → suhte 1,05*

TAYS  
ProCOUNT™ Laboratory Report

Sample Name:	Control	Control Reagent Lot Number:	66251
Sample ID:		TruCOUNT Lot Number:	31922
Case Number:		TruCOUNT Bead Count:	51466
Date Acquired:		Lab Director:	
Date Analyzed:		Operator:	
Sample Type:	Peripheral Blood	Cytometer:	FACSCalibur
Panel Name:	CD34	Cytometer ID:	E4469
FCS File Name:		FL1 Threshold:	476

Control



Cell count in CD34 gate: 0.4 / $\mu$ L      Dilution Factor: 1.00

as percent of nucleated cells:	0.002 %	Total events:	62315
as percent of CD45 cells:	0.002 %	Nucleated events:	60000
Absolute nucleated cell count:	26.7 $\times 10^3$ / $\mu$ L	TruCOUNT bead events:	2315
Absolute CD45 cell count:	26.3 $\times 10^3$ / $\mu$ L	CD34 events:	1
Remark:		CD45 events:	59246

INSPECT ALL DOT PLOTS. User defined CD34 region(s).

26: User defined acquisition debris region.



SYSMEX XE-5000™ -SOLUAUTOMAATIN ESIMERKKITULOSTE

Sample No.: H  
 Patient ID:  
 Name:  
 Comments:

Rack:  
 Ward:

Tube: 0

Dr.:  
 Birth:

Sex:  
 Inst.ID: XE-5000-1

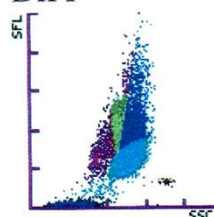
Positive  
 Morph.

WBC &	24.49	+	[10 <sup>9</sup> /L]
RBC	3.43	-	[10 <sup>12</sup> /L]
HGB	107	-	[g/L]
HCT	0.300	-	[L/L]
MCV	87.5		[fL]
MCH	31.2		[pg]
MCHC	357		[g/L]
PLT	101	-	[10 <sup>9</sup> /L]
RDW-SD	43.4		[fL]
RDW-CV	13.7		[%]
PDW	14.5		[fL]
MPV	11.4		[fL]
P-LCR	35.8		[%]
PCT	0.12	-	[%]
NEUT	21.03	*	[10 <sup>9</sup> /L]
LYMP&	1.12	*	[10 <sup>9</sup> /L]
MONO	1.77	*	[10 <sup>9</sup> /L]
EO	0.07	*	[10 <sup>9</sup> /L]
BASO	0.50	*	[10 <sup>9</sup> /L]
NRBC	0.14		[10 <sup>9</sup> /L]
RET	2.55	+	[%]
IRF	37.8		[%]
LFR	62.2		[%]
MFR	26.8		[%]
HFR	11.0		[%]
RET-He	27.3		[pg]
IPF	4.4		[%]
IG	4.45	*	[10 <sup>9</sup> /L]
HPC#	0.169		[10 <sup>3</sup> /uL]
WBC-BF			[10 <sup>3</sup> /uL]
RBC-BF			[10 <sup>6</sup> /uL]
MN			[10 <sup>3</sup> /uL]
PMN			[10 <sup>3</sup> /uL]

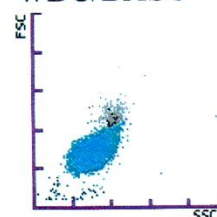
85.9	*	[%]
4.6	*	[%]
7.2	*	[%]
0.3	*	[%]
2.0	*	[%]
0.6		[/100WBC]
87.5		[10 <sup>9</sup> /L]

18.2	*	[%]
		[%]
		[%]

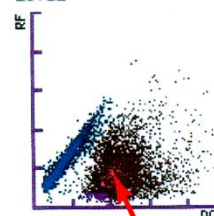
DIFF



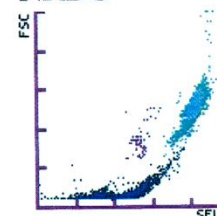
WBC/BASO



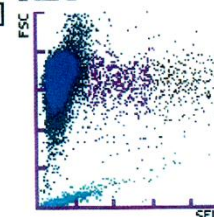
IMI



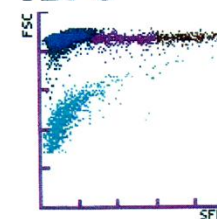
NRBC



RET



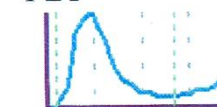
PLT-O



RBC



PLT



WBC IP Message(s)

RBC/RET IP Message(s)

PLT IP Message(s)

Blasts?  
 Immature Gran?  
 Left Shift?

## OHJEISTUS SYSMEX XE-5000™ -SOLUAUTOMAATILLA TEHTÄVIIN HPC-MÄÄRITYKSIIN

### KANTASOLUSIIRTOPOTILAIDEN HPC-MÄÄRITYS SYSMEXILLÄ

Syksyn ja kevään aikana testataan hematopoeettisten kantasolujen (HPC) määritystä XE-5000 laitteilla rinnan virtausytometrillä. Opiskelijat tekevät menetelmä-vertailusta opinnäytetyön. Siirtopotilaita on 1-2 kpl per viikko. Näytteitä potilaista tulee useampana perättäisenä aamuna.

Määritys tehdään potilaan B-SC -näytteestä (tai samaan aikaan otetusta B-TVK tai L-MNS -näytteestä) käyttäen tunnisteena B-SC:n näytenumeroa. Näytteestä tehdään kolme rinnakkaismääritystä. Huomioi, että näytettä jää riittävästi virtausytometriä varten (1 ml). Jokaisesta määrittämisestä tulostetaan Report for Lab. Use Only(O)-printti, jotka (3 kpl) talletetaan työpisteessä olevaan kansioon (HPC-TULOKSET XE-5000 / FLOW Laitevertailu).

#### SUORITUS:

Tee määritykset aina XE-1 laitteella, jos se on kunnossa.

Tee määritys heti aamuvuoron alussa, elleivät yököet ole ehtineet ajaa näytettä.

Toimita B-SC-näyte määrityksen jälkeen viipymättä virtausytometrille.

1. Paina XE-5000 laitteen LCD näytön Manual painiketta.
2. Siirry nuoli alaspäin painikkeella vasemman alareunan kohtaan Sample.
3. Valitse nuoli oikealle painikkeella kohta 2:HPC.
4. Vahvista valinnat painikkeella Enter.

Tarkasta, että LCD-näytön vasempaan yläkulmaan tulee teksti HPC-Manuaali.

Laite suorittaa IMI-kanavan pesun. Kun laite on Ready-tilassa, näytteen voi ajaa.

5. Lue B-SC:n näytenumero viivakoodilukijalla ja aja näyte avosyötön kautta. Toista tämä kolme kertaa. (Tarvittaessa: näytenumeron anto manuaalisesti: Paina LCD-näytön Manual-painiketta, syötä näytenumero ja paina Enter.)
6. Tulosta IPU:lta Report for Lab. Use Only(O)-printti kustakin ajosta.
7. Talleta printit työpisteessä olevaan kansioon. Kirjaa näytteen tiedot kansion lomakkeille kansiossa olevan ohjeen mukaan.

Tulokset ensimmäisistä näytteistä ovat yleensä matalia usein jopa nolliä. Tällöin tuloksen laatu on  $[10^3/\mu\text{L}]$  esim. HPC# 0.000  $[10^3/\mu\text{L}]$ . Luuytimen elpyessä kantasoluja ilmestyy perifeeriseen vereen mitattavia määriä. Tällöin tuloksen laatu voi muuttua muotoon  $[10^9/\text{L}]$  esim. HPC# 0.081  $[10^9/\text{L}]$  tai HPC# 0.198  $[10^9/\text{L}]$ . Katso esimerkit!

**Huom! Muista palauttaa XE-5000:n manuaalisuotön Sample-kohdan asetukseksi 1: Manual**

Lisätietoja määrittämisestä voi kysyä:

XE-5000 / Riikka Rontu / Merita Mikkola / Ilkka Kaakkolahti

Virtausytometria / Riitta Kemppi

Erikoishematologia / Pirkko Siro

## TULOSTAULUKKO

	<b>SYSMEX XE-5000™ (HPC) 10<sup>3</sup>/μl</b>			<b>SYSMEX keskiarvo 10<sup>3</sup>/μl</b>	<b>SYSMEX keskiarvo 10<sup>6</sup>/l</b>	<b>FACSCalibur™ (CD34) 10<sup>6</sup>/l</b>
1.	0,031	0,031	0,031	0,031	<b>31,0</b>	<b>40,1</b>
2.	0,081	0,067	0,091	0,080	<b>80,0</b>	<b>74,7</b>
3.	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>
4.	0,001	0,000	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>14,5</b>
5.	0,033	0,023	0,021	0,026	<b>26,0</b>	<b>153,1</b>
6.	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>0,1</b>
7.	0,014	0,011	0,009	0,011	<b>11,0</b>	<b>2,5</b>
8.	0,112	0,144	0,142	0,133	<b>133,0</b>	<b>111,3</b>
9.	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>0,1</b>
10.	0,002	0,004	0,001	0,002	<b>2,0</b>	<b>2,5</b>
11.	0,032	0,032	0,049	0,038	<b>38,0</b>	<b>28,4</b>
12.	0,082	0,060	0,075	0,072	<b>72,0</b>	<b>52,0</b>
13.	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>
14.	0,002	0,004	0,002	0,003	<b>3,0</b>	<b>8,0</b>
15.	0,060	0,074	0,049	0,061	<b>61,0</b>	<b>44,4</b>
16.	0,094	0,095	0,091	0,093	<b>93,0</b>	<b>52,1</b>
17.	0,071	0,080	0,100	0,084	<b>84,0</b>	<b>53,3</b>
18.	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>
19.	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>0,1</b>
20.	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>1,5</b>
21.	0,012	0,014	0,021	0,016	<b>16,0</b>	<b>30,2</b>
22.	0,049	0,074	0,112	0,078	<b>78,0</b>	<b>54,4</b>
23.	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>0,1</b>
24.	0,004	0,001	0,000	0,002	<b>2,0</b>	<b>17,0</b>
25.	0,145	0,122	0,124	0,130	<b>130,0</b>	<b>83,0</b>
26.	0,009	0,011	0,014	0,011	<b>11,0</b>	<b>11,7</b>
27.	0,006	0,007	0,007	0,007	<b>7,0</b>	<b>8,7</b>
28.	0,014	0,012	0,011	0,012	<b>12,0</b>	<b>64,5</b>
29.	0,075	0,073	0,086	0,078	<b>78,0</b>	<b>131,9</b>
30.	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>0,2</b>
31.	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>0,4</b>
32.	0,012	0,015	0,011	0,013	<b>13,0</b>	<b>14,1</b>
33.	0,006	0,004	0,005	0,005	<b>5,0</b>	<b>11,7</b>
34.	0,068	0,074	0,065	0,069	<b>69,0</b>	<b>61,0</b>
35.	0,164	0,169	0,181	0,171	<b>171,0</b>	<b>70,8</b>
36.	0,012	0,009	0,018	0,013	<b>13,0</b>	<b>60,8</b>
37.	0,000	0,001	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>17,8</b>

(jatkuu)

	<b>SYSMEX XE-5000™ (HPC) 10<sup>3</sup>/μl</b>			<b>SYSMEX keskiarvo 10<sup>3</sup>/μl</b>	<b>SYSMEX keskiarvo 10<sup>6</sup>/l</b>	<b>FACSCalibur™ (CD34) 10<sup>6</sup>/l</b>
38.	0,064	0,044	0,049	0,052	<b>52,0</b>	<b>64,0</b>
39.	0,007	0,004	0,002	0,004	<b>4,0</b>	<b>21,7</b>
40.	0,025	0,039	0,032	0,032	<b>32,0</b>	<b>56,5</b>
41.	0,048	0,048	0,048	0,048	<b>48,0</b>	<b>36,0</b>
42.	0,016	0,015	0,011	0,014	<b>14,0</b>	<b>27,6</b>
43.	0,020	0,027	0,027	0,025	<b>25,0</b>	<b>30,6</b>
44.	0,027	0,027	0,015	0,023	<b>23,0</b>	<b>22,8</b>
45.	0,009	0,012	0,007	0,009	<b>9,0</b>	<b>8,8</b>
46.	0,005	0,006	0,007	0,006	<b>6,0</b>	<b>13,7</b>
47.	0,018	0,025	0,021	0,021	<b>21,0</b>	<b>20,2</b>
48.	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>0,1</b>
49.	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>
50.	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,0</b>	<b>0,2</b>
51.	0,014	0,016	0,017	0,016	<b>16,0</b>	<b>49,2</b>