

T1551



T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
PEDIATRİK HEMATOLOJİ – ONKOLOJİ BİLİM DALI

**ALLOJENEİK PERİFERİK KÖK HÜCRE  
TRANSPLANTASYONLARINDA HAZIRLAYICI REJİME  
EKLENEN ANTİTİMOSİT GLOBULİN'İN  
TRANSPLANTASYON SONUÇLARINA ETKİSİ**

**Uz.Dr.O.Alphan Küpesiz**

**Yan Dal Uzmanlık Tezi**

T 1551

**Tez Danışmanı  
Prof.Dr.M.Akif Yeşilipek**

**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
REKTÖRLÜĞÜ KÜTÜPHANESİ**

**"Kaynakça Gösterilerek Tezimden Yararlanılabilir"**

**Antalya, 2003**

## TEŞEKKÜR

Yan dal uzmanlık eğitimimde ve tezimde değerli katkılarından dolayı tez danışmanım, Ana Bilim Dalı ve Bilim Dalı Başkanımız Prof.Dr.M.Akif Yeşilipek başta olmak üzere Doç.Dr.Volkan Hazar'a, Doç.Dr.İhsan Karadođan'a ve Ana Bilim Dalımız öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Uz.Dr.O.Alphan Küpesiz

Antalya, 2003

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No :</u>
<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b>	1
<b>GENEL BİLGİLER</b>	2 – 18
Hazırlayıcı Rejim	3
Hematopoetik Kök Hücre Kaynakları	5
Greft versus Host Hastalığı	6
GVHH Patogenezi	7
Akut GVHH Risk Faktörleri	9
Klinik Tablo	10
Kronik GVHH	12
GVHH Profilaksisi	13
GVHH İn vivo Profilaksisi	14
GVHH Tedavisi	14
Allojeneik Periferik Kök Hücre Transplantasyonu	15
Aferez ile Kök Hücre Toplanması	15
Yamanma	16
İmmünolojik Rekonstitüsyon	17
Greft Yetmezliği ve Reddi	17
Greft Versus Host Hastalığı ve PKHT	18
<b>MATERYAL VE METOD</b>	19 – 24
Hastalar	19
Donörler-HLA Doku Uyumları	19
Hazırlayıcı Rejim	20
GVHH Profilaksisi ve Tedavisi	21
Greft Yeterliliği	22
Antimikrobiyal Profilaksi	22

CMV Profilaksisi ve Enfeksiyonu Tedavisi	22
Kök Hücre Mobilizasyonu ve Toplanması	23
Yamanma	23
İmmün Rekonstitüsyon Parametrelerinin Değerlendirilmesi	23
İstatistik Değerlendirmesi	24
<b>SONUÇLAR</b>	<b>25 – 27</b>
ATG'nin Toleransı ve Organ Disfonksiyonu	25
Greft Yetmezliği	25
Yamanma	25
Enfeksiyonlar	26
İmmün Rekonstitüsyon	27
<b>TARTIŞMA</b>	<b>28 – 34</b>
<b>ÖZET</b>	<b>35</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>36 - 44</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AA	: Aplastik anemi
aGVHH	: Akut greft versus host hastalığı
ALG	: Antilenfosit globulin
ALL	: Akut lenfoblastik lösemi
Amega	: Amegakaryositik trombositopeni
ASH	: Antijen sunan hücre
ATG	: Anti-timosit globulin
CD	: Hücre belirteçleri
CMV	: Sitomegalovirüs
CTL	: Sitotoksik T lenfosit
EBMT	: Avrupa Kemik İliği Transplantasyon Birliği
FAA	: Fanconi aplastik anemisi
FISH	: Floresan in situ hibridizasyon
GCSF	: Granülosit koloni stimulan faktör
GİS	: Gastrointestinal sistem
HEPA	: Havadaki partikülleri temizleyici filtre
HKHT	: Hematopotik kök hücre transplantasyonu
HLA	: İnsan lökosit antijeni
HSV	: Herpes simpleks virüs
İg	: İmmünglobulin
İL	: İnterlökin
İV	: İntravenöz
İVİG	: İntravenöz immünglobulin
kGVHH	: Kronik greft versus host hastalığı
MLS	: Mutlak lenfosit sayısı
MMF	: Mikofenolat mofetil
NK	: Doğal katil hücre
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PKHT	: Periferik kök hücre transplantasyonu
PUVA	: Psoralen ultraviyole-A
TM	: Talasemi majör
TNF	: Tümör nekrotizan faktör
VNTR	: DNA'daki kısa tekrarlı diziler
VOH	: Venooklüziv hastalık

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Akut GVHH Patogenezi

Sayfa No:

8

## TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No:</u>
<b>Tablo 1.</b> Akut GVHH evreleme skoru	11
<b>Tablo 2.</b> Akut GVHH evrelemesi	11
<b>Tablo 3.</b> Kronik GVHH Klinik Sınıflandırması	12
<b>Tablo 4.</b> Periferik Kök Hücre Toplanması ve Allojeneik Transplantasyon	16
<b>Tablo 5.</b> Kemik İliği Toplanması ve Allojeneik Transplantasyon	17
<b>Tablo 6.</b> Olguların ve transplantasyonların özellikleri	20
<b>Tablo 7.</b> Yamanma, GVHH oranları	26
<b>Tablo 8.</b> CMV reaktivasyonu ve bakteriyemi oranları	26
<b>Tablo 9.</b> ATG alan olguların transplantasyon sonrası birinci yılda immün rekonstitüsyon parametreleri	28
<b>Tablo 10.</b> ATG almayan olguların transplantasyon sonrası birinci yılda immün rekonstitüsyon parametreleri	29

## GİRİŞ ve AMAÇ

Son yıllarda malign veya malign olmayan ve hayatı tehdit eden birçok hastalık hematopoetik kök hücre transplantasyonu (HKHT) ile tedavi edilmektedir. Transplantasyon ve destek tedavi yaklaşımlarının gelişmesine ek olarak transplant sonrası yamanma, immün rekonstitüsyon, tolerans ve greft versus host hastalığı (GVHH) hakkındaki bilgilerin artmasıyla başarı yüzdesi yükselmiştir.

Anti-timosit globulin (ATG), T hücrelerine karşı geliştirilen ve bu hücreleri yokedici veya inaktive edici etkisi nedeniyle kök hücre transplantasyonu uygulamaları arasında öncelikle akut GVHH'nin tedavisinde kullanılmaya başlanan antikordur. Aplastik anemi (AA) ve Fanconi aplastik anemisinde (Fanconi AA) olduğu gibi immünsüpresyon ve düşük düzeyde toksik etkisi nedeniyle hazırlayıcı rejimlere dahil edilmiştir. Akraba olmayan donörlerden yapılan allojeneik transplantasyonların hazırlayıcı rejimlerine eklenen ATG'nin GVHH sıklığını azalttığı gösterilmiştir. Buna karşın HLA (insan lökosit antijeni) doku grupları tam uyumlu transplantasyonlardaki etkinliği hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Pediatrik transplantasyonlarda aplastik anemi ve Fanconi AA olgularının hazırlayıcı rejimlerinde kullanılmasının yanında talasemi gibi çok kan transfüzyon yapılan olgular için hazırlayıcı rejime eklenmesi önerilmektedir.

Hazırlayıcı rejim içinde kullanılan ATG'nin pediatrik transplantasyonlarda yamanma zamanı, greft yetmezliği riski, akut ve kronik GVHH sıklığı, hazırlayıcı rejimin toksisitesinde ve transplantasyon sonrası dönemde enfeksiyon sıklığında farklılık yapıp yapmadığı hakkında geniş ve çok merkezli çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada amaç benzer özelliklere sahip çocuklarda periferik kök hücre transplantasyonu (PKHT) hazırlayıcı rejimine eklenen ATG'nin yamanma zamanı, greft yetmezliği, greft versus host hastalığı (GVHH) ve enfeksiyon sıklığı üzerine etkisini araştırmaktır.



## GENEL BİLGİLER

Çocuklarda ilk başarılı hematopoetik kök hücre transplantasyonu 1958 yılında lösemili bir olgunun ikiz kardeşinden kemik iliği kullanılarak yapılmıştır. Bunu immün yetmezlikli olgularda yapılan transplantasyonlar izlemiştir. İmmün yetmezliği olan olgularda HLA doku grupları genotipik olarak tam uyumlu kardeşlerinden kemik iliği kaynaklı hematopoetik kök hücreler verilerek yamanma (kök hücrelerin proliferasyona başlaması, engraftman) ve fonksiyonel immün sistem sağlanmasına karşın alıcıda donör hematopoezi gerçekleşmemesi nedeniyle yüksek doz kemoterapi veya ışınlamanın hazırlayıcı rejim içinde yer almasının önemi belirlenmiştir (1). Son 30 yılı aşkın süre içinde malign veya malign olmayan ve hayati tehdit eden birçok hastalık hematopoetik kök hücre transplantasyonu (HKHT) ile tedavi edilmiştir. Transplantasyon ve destek tedavilerin gelişmesi kadar yamanma, immün rekonstitüsyon, tolerans ve greft versus host hastalığının (GVHH) daha iyi anlaşılması çocuklardaki birçok hastalığın HKHT ile küratif tedavi edilmesindeki başarının asıl sebebidir. Allojeneik transplantasyonda hedef defektif alıcı hücrelerini sağlıklı donör hücreleri ile yer değiştirmek ve bunun yanında malign hastalıklı olgularda hazırlayıcı rejim ile malign hücrelerin yok edilmesi ve greftin rezidü malign hücrelere (greft versus lösemi etkisi) olan antitümör etkisinden yararlanmaktır.

Hematolojik hastalıklarda altta yatan hematolojik bozukluğu düzeltmek amacıyla yapılacak kemik iliği transplantasyonunun başarısında myeloablatif (kemik iliği hücrelerini yok edici etki) tedavinin etkinliği çok önemlidir. Bu şekilde defektif eritrositlere sahip orak hücre anemili, beta talasemili, ağır aplastik anemili ve diğer kemik iliği yetmezliği olgularında donöre ait sağlıklı hematopoezin sağlanması mümkün olabilmektedir (2, 3, 4, 5). En başarılı sonuçlar HLA tam uyumlu kardeşden yapılan transplantasyonlardan alınmıştır. Günümüzde Diamond-Blackfan anemisi, ağır aplastik anemi, beta talasemi, orak hücre anemisi, Fanconi aplastik

anemisi, diskeratozis konjenita, kronik granüloamatöz hastalık, amegakaryositik trombositopeni ve Kostmann hastalığında kemik iliği transplantasyonu küratif tedavi yöntemi olarak kabul edilmektedir (6).

Kök hücre kaynağı olarak kullanılan kemik iliğindeki hücrelerin hematopoetik hücrelere dönüşmesi yanında monositlerin dokulara migrasyonu ile farklılaşmış makrofajlar sayesinde eksik enzim veya protein sonucunda oluşan genetik metabolik hastalıklarda da allojeneik HKHT'nu alternatif tedavi seçeneği oluşturmaktadır.

### **Hazırlayıcı Rejim**

Hazırlayıcı rejim uygulanmasında iki önemli amaç söz konusudur. Bunlardan ilki alıcının hematopoezini yoketmek, ikincisi ise donörün hematopoetik hücrelerinin yamanması için alıcının immün sistemini baskılamaktır. Ancak bu yaklaşım ağır kombine immün yetmezlikte hastalığın doğası gereği immünsüpresyon durumu olması nedeniyle hazırlayıcı rejim gerekli olmadığı gibi aplastik anemide de hazırlayıcı rejim hematopoezi yoketmekten daha çok alıcının immün sisteminin süpresyonu amaçlı verilmektedir (6).

Hemoglobinopatili olgularda kemik iliği inefektif eritropoez nedeniyle proliferatif ve hipersellüler olduğundan donör hematopoezine yer açmak amacıyla konvansiyonel myeloablatif tedavi uygulanması gerekli olmaktadır. Ayrıca bu olgulara düzenli ve sık aralıklarla transfüzyon yapılmasıyla çok sayıda farklı donörlerle karşılaşma sonucu lökositlerde bulunan minör histokompatibilite antijenleriyle immün reaktivite kazanmaları olasılığı bulunmaktadır. Bu durumda hazırlayıcı rejimin etkin immünsüpresyon yapması gerekli olmakla birlikte toksisitesi morbiditeyi ve transplant ilişkili mortaliteyi düşük tutacak düzeyde olmalıdır (7). Son yıllarda bu amaçla çok transfüzyon almış olgularda (özellikle hemoglobinopati olguları) hazırlama rejimine antitimosit globulin (ATG) eklenmesi önerilmektedir. Hemoglobinopati olgularının düzenli ve

tekrarlayan eritrosit transfüzyonu almış olmaları farklı HLA doku antijenleriyle karşılaşmalarına neden olmaktadır. ATG, bazı merkezler tarafından greft reddini azaltmak ve GVHH'nı önlemek amaçlı hazırlayıcı rejime eklenmektedir (8, 9).

ATG veya antilenfosit globulin (ALG) at veya tavşanlara insan lenfosit (insan T lenfoblastları-Jurkat hücreleri) verilerek gerçekleştirilen immünizasyon sonucunda elde edilen bir serum niteliğindedir. ATG'nin serum fizyolojik içinde sulandırılarak intravenöz kullanım için sunulan ticari preparatları mevcuttur. Preparat lenfositlere karşı heterojen yapıda antikor özelliği taşımaktadır. Aktif lenfositlere karşı daha belirgin süpressif ve toksik etki göstermesi nedeniyle aktif lenfositlerin rol oynadığı greft rejeksiyonu, tolerans indüksiyonu ve immün sistemin etkin süpresyonunu gerektiren klinik durumlarda kullanılmaktadır. Kullanım endikasyonları merkezden merkeze değişiklik göstermekle birlikte organ transplantasyonlarında steroide dirençli GVHH tedavisi ve profilaksisinde, kemik iliği transplantasyonu uygulamalarında hazırlayıcı rejim içinde, ağır GVHH'da, aplastik anemi ve otoimmün hastalıkların tedavisinde yer almaktadır. ATG ilk olarak HLA uyumlu kemik iliği transplantasyonlarında greft rejeksiyonunu önlemek için kullanılmıştır (10, 11). Alıcının T lenfositleri aktif greft rejeksiyonunda önemli rol oynar. Alıcıda ki bu hücrelerin hazırlayıcı rejim ile etkin depleksiyonu veya inaktivasyonu yamanmanın hızlı olmasında ve devam etmesinde önem kazanmaktadır. T hücrelerinin bazıları uygulanan hazırlayıcı rejim depleksiyonundan kaçabilmektedir (12). Bu nedenle bazı araştırmacılar tarafından ATG preparatları özellikle akraba olmayan donörlerden yapılan nakillerde rejimlere eklenmiştir (13, 14, 15).

ATG kullanımına bağlı yan etkiler anafilaksi (%0,1) düzeyinde olabilecek ol aç reaksiyonlar (ürtiker, kaşıntı, döküntü), ateş, baş ağrısı, trombositopeni ve gastrointestinal yakınmalardır.

Lucarelli ve ark. (16) beta talasemi majörlü olgularda transplant öncesi değerlendirme için bir risk sınıflandırması önermişlerdir. Pesaro kriterleri olarak bilinen bu sınıflamada hastalar düzenli şelasyona

uyumlarına, hepatomegalinin ve karaciğer biyopsisinde portal fibrozisin varlığına göre sınıflandırılmışlardır. I. Grup (Class I) olgularda bu risk faktörlerinin hiçbirisi yokken II. Grup (Class II) olgularda bir veya iki risk faktörü, III. Grup (Class III) olgularda ise her üç faktör de bulunmaktadır. Buna göre kullanılan ilaç dozları değiştirilerek hastalısız sağkalımda belirgin artış sağlanabilmiştir (17).

Fanconi aplastik anemisi transplant öncesi ilaç dozu yoğunluğunun azaltıldığı diğer bir klinik modeldir. Bu hastalıkta alkilleyici ajanlara karşı artmış duyarlılık nedeniyle transplantasyona bağlı morbiditede belirgin artış söz konusudur. Bu nedenle Fanconi anemili olgularda hazırlama rejimi olarak sınırlı alan irradiasyonu ve/veya anti-T hücre antikoru ile düşük doz siklofosamid içeren rejimler kullanılmaktadır (6). Aplastik anemide hazırlayıcı rejimi genellikle ATG ve siklofosamid oluşturmaktadır. Fanconi aplastik anemisindeki hazırlayıcı rejimden farklı olarak daha yüksek dozlar uygulanmaktadır (18).

### **Hematopoetik Kök Hücre Kaynakları**

HKHT'da kök hücre kaynağı olarak önceleri sadece kemik iliği kullanılırken günümüzde periferik kan ve kordon kanı giderek yaygınlaşarak kullanılmaktadır. Hematopoetik büyüme faktörlerinin (granülosit koloni uyarıcı faktör ve granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör) periferik kan dolaşımındaki kök hücre sayısında geçici artış yapmasının bulunmasından sonra aferez ile bu hücrelerin toplanarak nakilde kullanılması gündeme gelmiş ve 1990'lı yılların başında PKHT uygulamaları başlamıştır (19). Son verilere göre otolog nakillerin çoğu ve allojeneik nakillerin önemli bir kısmı periferik kan kök hücre kaynaklı yapılmaktadır (6). PKHT, aferez ile kök hücreyi kolaylıkla elde edip saklayabilme, daha çabuk nötrofil ve trombosit yamanması dolayısıyla hastanede daha az kalma, daha az transfüzyon gerekliliği, düşük enfeksiyon sıklığı ve dolayısıyla düşük maliyet yanında olası tümör hücresi kontaminasyonu riskinin de düşük olması gibi avantajlara sahiptir (20, 21,

22). Periferik kök hücre transplantasyonu ile 10 kat daha fazla T hücre infüzyonu yapıldığı halde bunun akut GVHH riskinde önemli bir artış yapmadığı ancak kronik GVHH sıklığını artırdığı bildirilmektedir (20, 22, 23). HLA tam uyumlu kardeşten yapılan kemik iliği ve PKHT karşılaştırıldığı bir prospektif faz 3 çalışmasında HLA tam uyumlu donörlerden yapılan PKHT'da daha hızlı myeloid hücre artışı ve benzeyen oranlarda akut GVHH sıklığı görülmüştür (24). Kronik GVHH PKHT'da kemik iliği transplantasyonuna göre daha sık (%25-59 karşın %41-80) görülmektedir. Allojeneik nakiller için pediatrik yaştaki sağlıklı kardeş donörlere büyüme faktörü verilmesi ve lökoferez için gerekli santral venöz kateter uygulamalarıyla ilgili çekinceler devam etmekle birlikte PKHT giderek daha fazla tercih edilen transplantasyon tipi olmaktadır (25).

Umbilikal kordon kanı fetüsün doğmasından sonra plasentada kalan ve yüksek düzeyde erken hematopoetik progenitör hücre içeren bir kaynaktır. Umbilikal kordon kanı kullanılarak yapılan transplantasyonlarda donör seçiminde kolaylık, kök hücre elde etmede kolaylık, relapsda artış olmadan akut ve kronik GVHH riskinde azalma gibi avantajlara sahip olmasına karşın özellikle ağırlığı fazla alıcılarda verilen kök hücre sayısının yetersizliği nedeniyle greft yetmezliği riski yüksektir (26).

### **Greft versus Host Hastalığı**

Greft versus host hastalığı (GVHH) allojeneik hematopoetik kök hücre transplantasyonu sonrasında donör T hücrelerinin konak antijenlerini HLA doku grup farklılığı nedeniyle yabancı olarak algıyarak immün reaksiyon vermesi sonucunda oluşmaktadır. GVHH gelişebilmesi için bazı şartların gerekliliği ilk olarak 1966 yılında tanımlanmıştır (27):

1. Greft immünolojik olarak kompetan T hücreleri içermelidir.
2. Alıcı donörde olmayan ve grefte yabancı görünen doku alloantijenleri bulundurulmalıdır.
3. Alıcı grefte karşı etkin immünolojik reaksiyon verememelidir (donör lenfositlerini rejeke edememesi).

## Patogenez

GVHH'nın patogenezi Ferrara ve ark. (27) tarafından geliştirilen bir modelde açıklanmıştır. Buna göre GVHH, aferent fazda alıcıdaki farklı antijenlerin donör T lenfositleri tarafından tanınması ve eferent fazda efektör hücreler tarafından gerçekleştirilen reaksiyonlar zinciri sonucunda alıcı organlarında hasar yaratılmasıdır (Şekil 1). Antijen sunan hücre tarafından aktive edilen T lenfositleri İL-2 aracılığıyla proliferasyon ve salınan sitokinler salar. Eferent faz denilen bu evrede hedef hücrenin lizisine kadar giden ve salınan sitokinler ile doku hasarına yol açan olaylar silsilesi sözkonusudur. GVHH patogenezi donör T lenfositleri kadar yine efektör fazda fonksiyon gören donöre ait doğal katil hücreler, monositler ve fagositler de etkin rol oynar. Bu hücreler hazırlayıcı rejimde verilen yüksek doz kemoterapi ile lipopolisakkarit ve hücrel sızıntısının olduğu organlara saldırıya geçer. Hedef hücre epitel hücresi olup özellikle deri, gastrointestinal sistem ve karaciğerde safra kanalı epitelinde hasar meydana gelir. Bu aşamada aşırı sitokin salınımı sonucunda gelişen sitokin fırtınasının da önemli rolü bulunmaktadır (28).

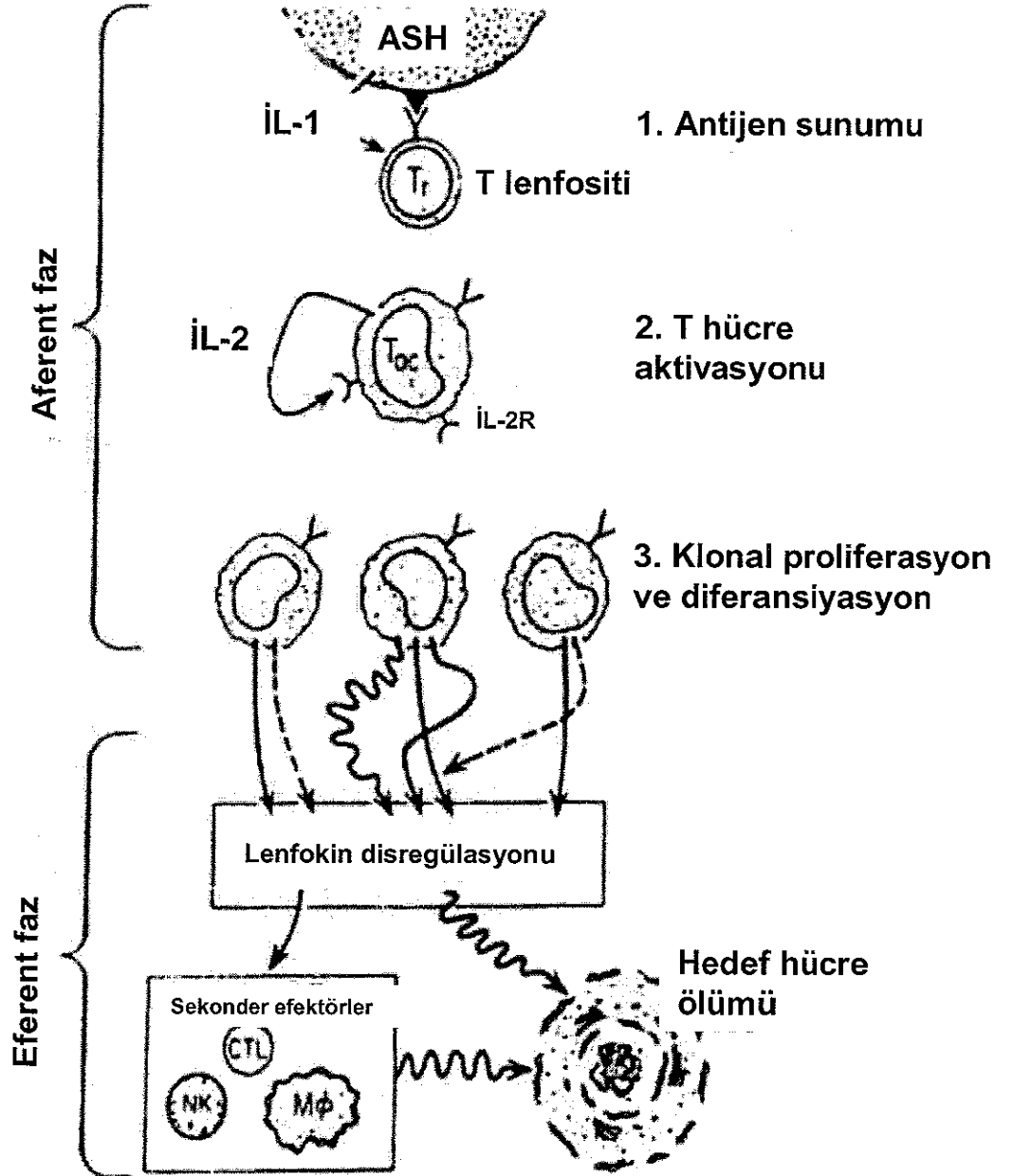
Geleneksel tanımlama olarak transplantasyondan sonraki ilk 100 günde ortaya çıkan GVHH'na akut, daha sonraki dönemdeki klinik tabloya ise kronik GVHH denilmektedir. Akut GVHH'dan farklı olarak kronik GVHH'da alıcının epitel hücresi dışında mezankimal dokusunda da zedelenme gelişir (28).

PKHT'da kemik iliği transplantasyonu ile karşılaştırıldığında verilen CD34+ hücre sayısı 4 kat, T hücre ve NK hücresi 10-20 kat daha fazladır. Bu değerlerle daha sık ve şiddetli akut GVHH beklerken benzer sıklıkta ve şiddette akut GVHH gözlenmektedir. Bir çalışmada ise bu oran kemik iliği transplantasyonunda (KİT) %56-66 düzeyindeyken PKHT'da %37-42 arasında bulunmuştur (29).



Şekil 1.

## Akut GVHH Patogenezi



Allojeneik transplantasyonlardaki GVHH'dan T hücreleri sorumludur. Alıcıya verilen hematopoietik hücrelerin içindeki T hücrelerin farklı yollarla azaltılmasına T hücre deplesyonu işlemi denilmektedir. Deplesyon işlemi kimyasal, mekanik veya immünolojik olarak yapılmaktadır. Greftteki T hücre deplesyonunu standart riske sahip alıcılar için kullanmaya gerek yoktur. T hücre deplesyonu yapılması ile T hücrelerinin yamanmadaki yardımcı etkisinde ve antitömör etkisinde azalma nedeniyle greft rejeksiyon olasılığı ve primer hastalığın relaps olasılığı artmaktadır. Bu nedenle özellikle alternatif donör kullanılan kök hücre transplantasyonlarında uygulanması önerilmektedir (27, 28 ,29).

Nonmyeloablative HKHT'da olduğu gibi hazırlayıcı rejim yoğunluğunun azaltılması (düşük doz radyasyon, fludarabin ve antitimosit globulin) ile aGVHH insidansını ve şiddetini azaltmak mümkün olabilmektedir. Bu transplantasyon tipinde amaç donör hücrelerinin yamanması ile birlikte alıcının grefte karşı tolerans göstermesi ve buna karşılık artmış GVHH riski olmaksızın greft versus lösemi etkisinin devam etmesidir (30).

### **Akut GVHH Risk Faktörleri**

- Majör veya minör histokompatibilite uygunsuzluğu olması
- Alıcının yaşının fazla olması
- Alıcı-donör arasında cinsiyet farklılığı
- Hazırlayıcı rejim ve/veya radyasyon dozunun intensif olması
- Greftteki T hücre sayısının yüksek olması
- GVHH profilaksisinin yetersiz olması
- Transplantasyon döneminde enfeksiyon atağı (HSV, CMV, HHV6)
- Sitokin gen polimorfizminin bulunması (İL-10, TNF)

Bu risk faktörlerinin yanında donörün duyarlılaşmış olması (gebelik, kan transfüzyonu), hastalık evresinin ileri olması ve alıcıya kan transfüzyonu yapılmış olması da sayılabilir. Transplantasyon öncesi mikst lenfosit kültürü, sitokin gen polimorfizmi ve sitokin kan düzeyleri gibi ön araştırmalar yapılması GVHH riski hakkında bilgi verebilir (31).



## Klinik Tablo

aGVHH'nın klasik triadı dermatit (döküntü), hepatit (sarılık) ve gastroenterittir (diare, karın ağrısı). Bu hedef organlar tek başlarına veya birlikte tutularak GVHH bulguları ortaya çıkar.

Deride hücresel düzeyde hedef epitelyal hücrelerdir. aGVHH genellikle palmar ve plantar deride belirgin görülen makülopapüler döküntü olarak başlar. Bunun yanında yanaklar, boyun, omuzlar, kulaklar döküntünün olduğu diğer alanlardır. Transplantasyondan genellikle 5-47 gün sonrasında ortaya çıkabilen bu lezyonlar kaşıntılı ve/veya ağrılı olabilir (32). Deri tutulumu ağırısa epidermal nekrolizis sonrası 3. derece yanık gibi büllöz ve deskuamatöz görünüm hakim olur. Ayırıcı tanıda hazırlayıcı rejim ve diğer ilaç toksisitesi, viral ekzantem ve ilaç allerjisiden ayırmak zor olabilir (30, 31).

İkinci sıklıkta tutulan organ karaciğer olup hedef safra kanalı epitel hücreleridir. Nadiren deri bulgusu olmadan karaciğer tek başına tutulabilir. Kendini kolestatik sarılık olarak gösterir. Kolestatik enzimler artarken tranzaminazlarda görülen artış çok belirleyici değildir. Ayırıcı tanıda hiperbilirübineminin diğer nedenleri olan hiperalimentasyon, venooklüziz hastalık (VOH), nodüler rejeneratif hiperplazi, enfeksiyonlar (CMV, HSV, hepatit B) ve ilaç toksisitesi gözardı edilmemelidir (30, 31).

GVHH'da üçüncü olarak tutulan sistem gastrointestinal sistemdir (intestinal epitel hücreleri). Tutulum kendini kramp şeklinde karın ağrıları ve diare ile gösterir. Enteral sıvı kaybının miktarı tutulumun şiddeti hakkında bilgi verdiği gibi uygulanan tedaviye yanıtı da gösterir. GİS tutulumunun hafif formu olarak tanımlanan üst GİS tutulum bulguları da gelişebilir. Bu form kendini anoreksi, bulantı, dispepsi ve kusma olarak gösterir ve immünsüpressif tedaviye çok iyi yanıt verir. Endoskopi yapıldığında görülen bulgu normal görünüm ile yaygın ödem ve mukozal soyulma arasında değişmektedir. Ayırıcı tanıda kemoterapi veya radyoterapinin rezidüel etkileri, antibiyotik yan etkileri, enfeksiyonlar (C. difficile, CMV) akla gelmelidir (30, 31).

Olgularda akut GVHH'nın derecelendirmesi için deri tutulumunun alanı, dışkılama miktarı (GİS tutulumu), bilirübin düzeyi (karaciğer tutulumu) esas alınır. Avrupa Kan ve Kemik İliği Transplantasyonu Birliğinin (EBMT) organ tutulumlarına göre akut GVHH'nın derecelendirmesi Tablo 1 ve Tablo 2'de gösterilmiştir

Akut GVHH'da tanı amaçlı deri biyopsisi çok sık kullanılan tanı yöntemidir. Vaküoler dejenerasyon, lenfosit infiltrasyonu, diskeratoz, bazal hücre nekrozu, akantoliz ve epidermolizis görülebilen bulgulardır. Tranplantasyondan sonraki ilk üç hafta mikroskopik bulgular kullanılan hazırlayıcı rejimden kaynaklanan değişiklikler ile çok karışmaktadır. Bu durumda elektron mikroskobu ile satelit hücre nekrozu aramak yararlı olabilir. Aynı şekilde anti-TNF antikoru ile aktif intraepitelyal lenfositler görülebilir (33, 34).

Tablo 1. Akut GVHH evreleme skoru

Evre	Deri (döküntü yaygınlığı)	Karaciğer (bilirübin düzeyi)	İntestinum (diare)
0	Döküntü yok	<2mg/dl	< 500 ml/gün
+	< %25 vücut yüzeyi	2-3 mg/dl	>500 ml/gün
++	%25-50 vücut yüzeyi	3-6 mg/dl	>1000 ml/gün
+++	Yaygın eritrodermi	6-15 mg/dl	>1500 ml/gün
++++	Deskuamasyon, bül	>15 mg/dl	Ağrı veya ileus

Tablo 2. Akut GVHH evrelemesi

GVHH Şiddeti	Deri	Karaciğer	Barsak	Fonksiyon Kaybı
I (hafif)	+ /+++	0	0	0
II (orta)	+ /++++	+	+	+
III (ağır)	++ /+++	++ /+++	++ /+++	++
IV (hayati tehdit)	++ /++++	++ /++++	++ /++++	+++

## Kronik GVHH

Kronik GVHH'nın (kGVHH) genel olarak transplantasyonun ilk 100 gününden sonra çıktığı kabul edilmektedir. Kronik GVHH olgularının çoğu akut GVHH'nın devam etmesi (progresyon) veya akut GVHH'nın iyileşmesinden (ardışık) sonra çıkması şeklindedir. Olguların %20'de ise akut GVHH olmadan (de novo) başlayabilir. Sınıflandırma klinik olarak organ tutulumuna göre yapıp sınırlı veya yaygın olarak derecelendirilir. Tablo 3'de bu sınıflandırma gösterilmiştir. Otoimmün hastalıklarda görülen klinik ve organ tutulum özelliklerini barındırmaktadır (31).

Etyolojide T lenfositleri yine ön planda olup bu dönemde kök hücreden yeni gelişen T lenfositler olduğu düşünülmektedir. kGVHH alloreaktivitenin geç fazında ortaya çıkan bir hastalıktır. Minör antijenlerin geç tanınmasına bağlı geliştiği ve otoimmün benzeri hastalık olduğunu düşünen yazarlarda vardır. Deneysel ve klinik çalışmalarda timik involüsyon sonrasında otoreaktivitenin geliştiği bilinmektedir. Kronik GVHH gelişen hastaların %11-62'de otoantikorlar gösterilmiştir (27, 28).

Tablo 3. Kronik GVHH Klinik Sınıflandırması

Sınırlı Kronik GVHH	Yaygın Kronik GVHH
* Lokalize deri tutulumu ve/veya	* Yaygın deri tutulumu veya
* Hepatik fonksiyon bozukluğu	* Lokalize deri tutulumu (hepatik fonksiyon bozukluğu da olabilir) Bunlarla birlikte en az birinin olması gereken bulgular: Kronik ağırsif hepatit, oral mukoza tutulumu veya diğer hedef organ tutulumları)

Kronik GVHH PKHT'da kemik iliği transplantasyonuna göre daha sık (%25-59 karşın %41-80) görülmektedir. Bunun nedeninin üründeki T hücre sayısının kemik iliği transplantasyonunda verileden 10-20 kat fazla olması olarak düşünülmektedir (30, 31).

Kronik GVHH patofizyolojik açıdan epitel hücresi yanında mezenkimal hücre tutulumu, fibrozis ve kollajen artışı ile karakterizedir. Buna bağlı olarak da otoimmün hastalık benzeri jeneralize bulgular ortaya çıkar. Kaşeksi, deri tutulumu (%80 olguda, eritem, hiperkeratoz, deskuamasyon, likenoid-skleroid fibrozis, tırnak distrofisi), karaciğer tutulumu (%75 olguda, kolestaz), oral mukoza değişiklikleri (%70 olguda, kuruluk, glossit, stomatit), göz (%50), sikka sendromu (ağız ve gözde kuruluk), iskelet sistemi (polimyozit, kontraktür), pulmoner bulgular (bronşiolitis obliterans, pulmoner fibrozis), gastrointestinal bozukluklar (malabsorbsiyon, striktür) görülebilir (28, 31, 32)

Kronik GVHH'da yüksek risk faktörleri; PKHT yapılmış olması, progresif başlangıç, trombositopeni, likenoid form, bilirubin >1,2 mg/dl olması ve steroid bağımlılığı olarak bildirilmiştir (31).

### **GVHH Profilaksisi**

Donör seçiminde tam uyumlu akraba olması, hücre içeren kan ürünlerinin ışınlanması, risk faktörlerinin azaltılması (enfeksiyon için profilaktik antibiyotik, İVİG kullanımı, düşük yoğunlukta hazırlayıcı rejim), in vitro veya in vivo T hücre depleasyonu (CD34 pozitif hücre seleksiyonu, antikorlarla Campath IgG/IgM, soybean lektin-E rozet yöntemi veya hastaya anti-timosit antikor verilmesi) GVHH riskini azaltmaktadır (29). İn vitro T hücre depleasyonu uygulamasının GVHH sıklığını azaltmakla birlikte relapsta artış, yamanmada yetersizlik ve immün rekonstitüsyonda gecikme şeklinde istenmeyen etkilere neden olduğu bildirilmektedir (32, 35).

## GVHH İn vivo Profilaksisi

Akut GVHH önlemek için tüm allojeneik transplantasyon hastalarına nakil sonrası profilaksi uygulanması önerilmektedir. Bu amaçla uygulanan ilaçlar siklosporin, metotreksat ve prednizolondur. En fazla tercih edilen siklosporin ve metotreksatın kombine kullanımudur (33). Bu amaçla siklosporin PKHT'nunun -1 veya -2. gününde başlanarak 6-12 ay süreyle ve kısa süreli metotreksat (PKHT sonrası +1, +3, +6 ve +11 günlerde) verilir. Diğer immünsüpressif tedaviler içinde takrolimus, mikofenolat mofetil (MMF), antitimosit globulin, rapamisin ile birlikte yeni tedavi yaklaşımları içinde sitokinlere yönelik monoklonal antikolar, T hücre belirteçlerine yönelik antikolar ve kostimülasyon blokajı yer almaktadır (32, 34, 35).

## GVHH Tedavisi

Profilaksi alıp akut GVHH gelişen hastalarda primer tedavi olarak önce steroid (prednizolon, metilprednizolon), yanıtız hastalarda sekonder tedavi olarak yüksek doz metilprednizolon, ATG, monoklonal antikolar (OKT3, Anti-İL2 reseptör, anti-TNF) ve diğer immünsüpressifler (MMF, takrolimus) kullanılır. Tedaviye devam ederken siklosporin kesilmemelidir. Tedavi süresi hakkında farklı görüşler olmakla birlikte en az 8 hafta olması gerektiği bildirilmektedir (28, 32).

Kronik GVHH da ise esas ilaç steroid olup siklosporin ve azatioprin de kullanılmaktadır. Diğer tedavi seçenekleri arasında takrolimus, MMF, talidomid, klofazimin, retinoik asit, klorokin, ekstrakorporeal fotokemoterapi, PUVA ve total lenfoid ışınlamanın da yeri vardır. Kronik GVHH'da enfeksiyona yatkınlıkta belirgin artış nedeniyle profilaksinin ve farklı organ tutulumlarına yönelik destek tedavinin önemi vardır (28, 36, 37).

## Allojeneik Periferik Kök Hücre Transplantasyonu

Son yıllarda transplantasyon merkezlerinde kök hücre naklinde kemik iliği yerine periferik kan kullanılması giderek artmaktadır (38). Normalde periferik kanda dolaşan mutlak CD34+ hücre sayısı  $3.8 (\pm 0.8 \text{ standart deviasyon}) \times 10^6/\text{L}$  olarak bilinmektedir (39). Granülosit koloni stimulan faktör (GCSF) altta yatan mekanizması bilinmemekle beraber geçici olarak ekstrasvasküler alandan veya marjinal havuzdan periferik kana kök hücre (CD34+) mobilizasyonunu artırmaktadır. Hergün GCSF verilen olgularda 4. günde (1. gün GCSF'nin ilk günü) CD34+ hücre sayısı giderek artıp 5. günde en yüksek düzeye ulaşmaktadır (normalin 15-35 katı) (40). Bu bilgi temelinde en uygun aferez günü 5. gün olup diğer uygun günler 4, 6 ve 7. günler olmaktadır. GCSF dozunun en azından 5-10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{gün}$  olması gerektiği ve önemli yan etki olasılığının çok düşük olduğu bildirilmektedir (41, 42). Rekombinant GCSF'nin dozla ilişkili en sık yan etkiler kemik ağrısı, baş ağrısı, kırıklık ve bulantıdır (43).

## Aferez ile Kök Hücre Toplanması

Aferez kanın bir komponentinin alınıp, geri kalanının hastaya veya donöre geri verilmesi işlemi olarak tanımlanmaktadır. Bir seans içinde donör kan hacminin 2-3 katı kadar kan işlenmesi önerilse de daha yüksek hacime ulaşarak da aferez yapılabilir (38). Antikoagülasyon sağlamak için genellikle sürekli infüzyon şeklinde asit-sitrat-dekstroz A (ACD-A) kullanılmaktadır. Aferezin yapılabilmesi için en az 20ml/dk hızla kan akımı sağlayabilen damar yolu gereksinimi olmaktadır. Çocuklarda bu amaçla kullanılan çift lümenli venöz kateterler yeterli akım sağlamaktadır.

Kemik iliğinden kök hücre toplanması güvenli kabul edilse de ameliyathane şartları gerektirmesi, genel anestezi ve kısa süreli hastanede yatış gerektirmesi, kan transfüzyonu ihtiyacı, girişime bağlı lokal komplikasyon riski, işlem sonrası ağrı ve yürüme güçlüğü olması dezavantajlarıdır (43). Tablo 4 ve 5'de her iki nakil tipinin avantaj ve dezavantajları gösterilmiştir.

Pediyatrik donörlerden de başarıyla allojeneik transplantasyon için aferez ile kök hücre elde edilebileceği gösterilmiştir (44, 45). HLA tam uyumlu kardeşten allojeneik PKHT'da CD34+ hücre sayısının en az  $0.7 \times 10^6/\text{kg}$  (hasta) olması gerektiği  $2 \times 10^6/\text{kg}$  geçen miktarın daha erken hematopoetik iyileşmeye neden olduğu ve tedavi ilişkili mortaliteyi azalttığı bildirilmiştir (46).

### Yamanma

Yamanma transplantasyonu yapılan greftin (kök hücrelerin) hücre proliferasyonuna başlamasının bulgusu olarak kabul edilmektedir. PKHT sonrası nötrofil ve trombosit yamanması kemik iliği transplantasyonuna göre daha kısa sürede olmaktadır. Bunun sonucunda PKHT hastalarının transfüzyon ihtiyacı daha az olmasının yanında hızlı yamanma nedeniyle enfeksiyon riski ve hastanede kalma süresi daha kısadır (47). Hastaneden erken taburcu edilme transplantasyonun genel maliyetini azaltmaktadır.

Tablo 4. Periferik Kök Hücre Toplanması ve Allojeneik Transplantasyon  
(38)

Avantajları	Dezavantajları
Dolaşan kök hücre havuzuna kolay ulaşım	Kök hücre toplanması için vasküler yol gerekliliği
Yüksek sayıda CD34+ hücreye ulaşılabilme	Mobilizasyon gerekliliği ve sitokin tedavisine bağlı yan etkiler
Yüksek sayıda lenfoid hücre sayısı	Bir kez toplanmanın yetersiz olabilmesi
Donöre ardışık işlemlerin kolaylıkla yapılabilmesi	Yüksek kronik GVHH
Daha fazla donöre ulaşılabilme	
Daha hızlı yamanma	
Daha hızlı immün rekonstitüsyon	
Yüksek greft versus malignite etkisi	



Tablo 5. Kemik İliği Toplanması ve Allojeneik Transplantasyon (38)

Avantajları	Dezavantajları
Bilinen kök hücre kaynağı	Riskli toplama işlemi (genel anestezi, kanama riski, enfeksiyon, sinir hasarı)
Mobilizasyon gerektirmemesi	Toplama sonrası 1-2 hafta sürebilen kemik ağrısı
Bir günde toplanabilmesi	Transfüzyon gereksinimi

### İmmünolojik Rekonstitüsyon

Transplantasyon öncesi yeterli kemoradyoterapi verildiyse tüm alıcılarda hematopoez ve T hücre ilişkili immünite tamamıyla ve B hücre ilişkili immünitenin ise tama yakını yokolmaktadır. PKHT ile kemik iliği transplantasyonuna göre 10-20 kat daha fazla T ve NK hücresi verilmesi sonucunda hem kısa süreli de olsa hücresele immünite transferi sağlanmakta hem de immün rekonstitüsyon daha hızlı olmaktadır (38, 39). Bu nedenle enfeksiyöz komplikasyonlar çok daha az olmakta, transplantasyon başarısında belirgin artış sağlanmaktadır. Antijen spesifik hücresele immün yanıt virüs, protozoon ve fungal enfeksiyonları kontrol etmek için gereklidir. B lenfositler tarafından geliştirilen spesifik antikor yanıtı T lenfositlerin aracılığı ile sağlanır ve özellikle solunum yolu enfeksiyonuna neden olan kapsüllü bakterileri kontrol etmekte önem kazanır. Dolayısıyla PKHT sonrası immünolojik rekonstitüsyon kemik iliği transplantasyonuna göre daha hızlı olmaktadır. CD4/CD8 oranında hızlı düzelme sonrasında enfeksiyöz komplikasyonlara (CMV, fungal ajanlar) sekonder morbidite ve mortalitede belirgin azalma olmaktadır (48, 49).

### Greft Yetmezliği ve Reddi

Greft rejeksiyonu (reddi), transplantasyon sonrası yamanmanın olmaması, pansitopeni gelişimi veya yamanma gerçekleşmesinden sonra kemik iliği aplazisi gelişmesi olarak tanımlanmaktadır. Transplantasyondan



önce alıcının donöre karşı transfüzyona bağlı alloimmünizasyon geliştirmiş olması greft reddi riskini artırmaktadır. Alıcının alloimmünize olduğu antijenler donörde mevcutsa transplantasyon sonrası alıcıda kalmış olan hafıza T hücreleri veya önceden gelişmiş olan antikolar yoluyla donör hücreleri yokedilebilmektedir. Greft reddini belirleyen diğer etkenler transplantasyon öncesi ve sonrası immünsüpressif rejimin etkinliği ile donörden transfer edilen T hücrelerinin miktarıdır (50).

### **Greft Versus Host Hastalığı**

Kemik iliği ile karşılaştırılınca periferik kandan aferezle elde edilen CD34+ hücre sayısı 4 kat, T ve NK hücre sayısı 10-20 kat daha fazla olması nedeniyle daha ağır akut GVHH olacağı düşünülmesine karşın sıklık benzer düzeydedir (50). Buna karşın kronik GVHH ile ilgili çalışmalarda ise PKHT yapılan olgularda KİT yapılanlara göre (sırasıyla %80 ve %59) daha yüksek bulunmuştur (51, 52). Üründeki CD34+ seçimi yapılarak T hücre sayısında kısmi azalma sonrasında GVHH'nın sıklığı ve şiddetini azaltan terapötik yaklaşımlar için prospektif ve randomize çalışmalara ihtiyaç vardır.

## MATERYEL - METOD

### Hastalar

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı'nda 1998-2002 yılları arasında allojeneik PKHT yapılan ve transplantasyon sonrası bir yılını tamamlayan 26 olgu çalışmaya alındı. Olguların 20'si hemoglobinopati (19 beta talasemi majör, biri S/ $\beta$  talasemi), 3'ü aplastik anemi (AA), biri akut lenfoblastik lösemi (ALL), biri Fanconi aplastik anemisi (Fanconi AA) ve biri amegakaryositik trombositopeni (Amega) tanısı ile izlenmekteydi. Olgular hazırlayıcı rejim içinde ATG verilen ve verilmeyenler olarak iki gruba ayrıldılar. Hastaların özellikleri Tablo 6'da gösterilmektedir.

Olgular kök hücre transplantasyon ünitesinde tek kişilik HEPA (havadaki partikülleri temizleyici filtre) filtreli odalarda bir ebeveynleri refakatinde -10. günden +30-40. güne kadar izlendikten sonra pediatri servisinde veya ayaktan izleme devam edildi. Hastalar transplantasyon ünitesinde yattığı dönemde steril ve devamında yaklaşık 6 ay boyunca düşük bakteri içerikli gıda ile beslendi.

### Donörler-HLA Doku Uyumları

Yirmialtı hastanın tümü donörler ile tam uyumlu akraba olup 23 olgunun donörü kardeş 3 olgunun donörleri ebeveyni. HLA doku gruplarına serolojik ve moleküler biyolojik analiz (PCR) yöntemiyle bakıldı. Transplantasyon öncesi tüm donör ve alıcı lenfositlerinin in vitro karışık lenfosit kültür ortamında (mikst lenfosit kültürü) reaksiyon oluşturmadığı gösterildi.

## Hazırlayıcı Rejim

Hemoglobinopatili olgular transplantasyon öncesi değerlendirmede Lucarelli ve ark. (53) tarafından öngörülen Pesaro kriterlerine göre sınıflandırıldı. Bu sınıflandırmada düzensiz şelasyon, karaciğer büyüklüğü (kot kenarını >2cm. geçmesi) ve pretransplant karaciğer biyopsisinde portal fibrozis olmasına göre hastalar ayrılmaktadır. Bu bulgulardan hiçbirisinin olmaması halinde I. Grup, bir veya ikisinin olması halinde II. Grup, üçünün olması halinde III. Grup kabul edildi.

Tablo 6. Olguların ve transplantasyonların özellikleri

	ATG alan grup	ATG almayan grup	P değeri
Olgu sayısı	15	11	-
Erkek / Kız	5 / 10	8 / 3	-
Kardeş / Ebeveyn Donör	12 / 3	11 / -	-
Tanı			
Hemoglobinopati	10	10	
ALL	-	1	
Fanconi AA	1	-	
Aplastik anemi	3	-	
Amega.	1	-	
Ortanca yaş, yıl (aralık)	5 (1-14)	4 (1-15)	0,83
Ortanca izlem süresi, ay (aralık)	23 (12-60)	41 (12-56)	0,94
Verilen üründeki ortanca MNH sayısı (x 10 <sup>8</sup> /kg)	7,3 (4,63-13,8)	9,32 (5,8-11,6)	0,052
Verilen üründeki ortanca CD34+ hücre sayısı (x 10 <sup>6</sup> /kg)	4,23 (1,17-29,44)	5,95 (1,1-17,28)	0,85

Hemoglobinopati tanılı hastalara 01.06.2000 tarihine kadar ATG içermeyen hazırlayıcı rejim bu tarihten sonra ATG eklenmiş hazırlayıcı rejim verildi. Hemoglobinopati tanısı dışındaki hastalar EBMT Birliğinin önerdiği protokollar gerektiriyorsa ATG aldılar. ATG alacak olguların tümünde standart olarak tavşan kaynaklı ve tek firmanın üretimi olan preparat kullanıldı (Fresenius, Bad Homburg, Germany).

Hemoglobinopatili Hastalar: Grup I-II olgularına busulfan 16 mg/kg (-9. ile -6. günler arasında, 4 gün), siklofosfamid 200 mg/kg (-5. ile -2. günler arasında, 4 gün) total, Class III olgulara busulfan 14 mg/kg, siklofosfamid 160 mg/kg total, ATG (Fresenius, Bad Homburg, Germany) alanlara total doz 30 mg/kg olacak şekilde -1., 0. ve +1. günlerde 10 mg/kg/gün olarak uygulandı.

Aplastik Anemi ve Amegakaryositik Trombositopeni Olguları: Siklofosfamid 200 mg/kg total (-5. ile -2. günler arasında, 4 gün) ve ATG total doz 90 mg/kg olacak şekilde (-5. gün ile -3. günler arasında) uygulandı.

ALL Olgusu: Busulfan 20 mg/kg (-8. gün ile -5. günler arasında), siklofosfamid 100 mg/kg (-3. ve -2. günlerde), etoposid 40 mg/kg -4. gün uygulandı.

Fanconi Aplastik Anemisi Olguları: Siklofosfamid total 20 mg/kg (-6.gün ile -3. günler arasında), torakoabdominal ışınlama -2. gün, ATG total doz 60 mg/kg olacak şekilde (-1., 0. ve +1. günlerde) uygulandı.

Busulfanın neden olabileceği konvülziyon profilaksisi için fenitoin, üroepitelyal profilaksi için hiperhidrasyon ve mesna kullanıldı. ATG infüzyonu öncesi parasetamol ve antihistaminik ile premedikasyon yapıldı.

### **GVHH Profilaksisi ve Tedavisi**

Profilaksi protokolu Fanconi aplastik anemisi dışındakilerde metotreksat ve siklosporin, Fanconi aplastik anemili olgularda sadece siklosporin içermekteydi.

Metotreksat +1., +3. ve +6. günlerde +1. gün dozu 10 mg/m<sup>2</sup>, +3. ve +6. gün dozları 8 mg/m<sup>2</sup> olarak uygulandı. Tüm olgulara -1. günde siklosporin 3 mg/kg/gün dozunda intravenöz yüklemenin ardından ilk 30 gün süresince veya ayaktan takibe alınana kadar 2 mg/kg/gün İV yoldan daha sonra oral yol ile kullanıldı. Siklosporin kan düzeyi posttransplant ilk ay haftada iki kez, sonraki iki ay haftada bir ve takiben iki haftada bir

ölçülerek gerekli olduğunda doz ayarlaması yapıldı. Oral yol ile kullanıma ALL ve aplastik anemi hastalarında 6 ay, hemoglobinopati hastalarında 9-12 ay süreyle devam edildi ve bir ay içinde azaltarak kesildi.

GVHH tanı ve evrelemesi için Avrupa Kemik İliği Transplantasyonu Birliğinin (EBMT) öngördüğü kriterler esas alındı (54). Akut GVHH tanısı alan olgulara prednizolon 2mg/kg/gün dozunda başlanarak hastanın bulgularının kontrol altına alınmasından sonra bulguların gerilemesine göre 2-8 hafta arasında azaltılarak kesildi. Prednizolon tedavisine yanıt vermeyen olgularda yüksek doz metil prednizolon tedavisi kullanıldı. Kronik GVHH'da prednizolon, metilprednizolon, MMF veya siklosporin kullanıldı.

### **Greft Yeterliliği**

Kan grubu değişimi, VNTR veya FISH ile kimerizm tayini ve hemoglobinopatili olgularda hemoglobin elektroforezi ile greft durumu test edildi. Greft yetmezliği tanısı kimerizm araştırması ve fonksiyonel kemik iliği durumuna göre karar verildi.

### **Antimikrobiyal Profilaksi**

Bu amaçla tüm hastalara -10. günden itibaren İV yol ile 10-15 mg/kg/gün siprofloksasin ve 5 mg/kg/gün flukanazol başlanıp tolere ettikten sonra orale geçilerek 6. ay sonuna kadar devam edildi. Lökosit artışı ( $1500/\text{mm}^3$ ) gerçekleştikten sonra *P. carinii* profilaksisi için trimetoprim-sülfometoksazol başlanarak bir yıl süreyle haftada üç gün 5 mg/kg/gün kullanıldı. İntravenöz immünglobulin -1. günde başlanarak haftada bir kez 0,5 gr/kg 6 ay süreyle uygulandı.

### **CMV Profilaksisi ve Enfeksiyonu Tedavisi**

Transplantasyondan 10 gün önce başlanarak +30. güne kadar asiklovir 30 mg/kg/gün üç dozda İV uygulamanın ardından 15-20

mg/kg/doz günde dört kez orale geçilerek 6. ay sonuna kadar devam edildi. CMV antijenemi düzeyi 200.000 lökositte bir hücrede pozitif ise 3 gün sonraki tekrarında pozitif hücre sayısında artış varsa CMV enfeksiyonu tanısıyla gansiklovir 10 mg/kg/gün iki dozda 2 hafta süreyle uygulandı. Bu süre sonunda asiklovir aynı dozda başlanarak posttransplant 6. ay sonuna kadar devam edildi. Çalışmadaki tüm olgularda CMV serolojisi geçirilmiş enfeksiyonu göstermekteydi.

### **Kök Hücre Mobilizasyonu ve Toplanması**

Mobilizasyon için çocuk donörlere 5 mikrogr/kg günde bir kez subkutan, erişkin donörlere 5 mikrogr/kg günde iki kez subkutan GCSF başlanarak 5-7 gün uygulandı. Kök hücre kaynağı olarak tüm olgular için periferik kan kullanıldı. Tam uyumlu kardeş veya ebeveyn donöre periferik damar yolu açılması veya çift lümenli femoral kateter yerleştirilmesinden sonra Fresenius, Cobe ve Haemonetics aferez cihazları kullanılarak kök hücre aferez işlemi gerçekleştirildi. Toplanan kök hücre in vitro T hücre depleasyonu veya başka bir işlem yapılmaksızın aynı gün alıcıya verildi.

CMV antijenemi testi transplantasyonun ilk ayı haftada 2 kez, sonraki 2 ayı haftada bir, sonraki 3 ayı iki haftada bir uygulandı.

### **Yamanma**

Transplantasyon sonrası nötrofil yamanması için nötrofil sayısının ardısıra 3 gün  $500/\text{mm}^3$ 'ün, trombosit yamanması için trombosit sayısının ardısıra 7 gün  $20000/\text{mm}^3$ 'ün üzerinde olması kabul edildi.

### **İmmün Rekonstitüsyon Parametrelerinin Değerlendirilmesi**

İmmünsüpressif tedavi kesiminden en az 2 ay sonra 26 olgunun 19'unda sadece transplantasyon sonrası birinci yılda immün rekonstitüsyon parametreleri değerlendirildi. Diğer olgular teknik ve çalışma kitlerinin mevcudiyeti ile ilgili sorunlar nedeniyle çalışma dışında

brakıldı. Periferik kan mutlak lenfosit sayısı ve CD3+, CD4+, CD8+ ve CD19+ hücreler akış sitometri cihazı (Coulter, EPICS XL-MCL) ile mutlak sayıları ölçüldü. Serum immünglobulin A, M ve G düzeyleri nefelometrik yöntemle ölçüldü. Lenfosit alt grupları ve immünglobülin düzeyleri yaşa göre normal düzeyleri ile karşılaştırılarak değerlendirildi (55, 56). İmmünglobülin düzeyleri için normalin iki standart deviasyon değerinin altında olanlar düşük olarak değerlendirildi (55). Lenfosit alt grupları için Hannet ve arkadaşlarının (56) yaptığı çalışma verilerine göre 25. persentilin altında kalan değerler düşük olarak kabul edildi.

### **İstatistik Değerlendirmesi**

Trombosit ve nötrofil yamanma parametreleri student t testi, immün rekonstitüsyon parametreleri Fisher'in ki-kare testi, diğer parametreler Mann-Whitney istatistik testi ile değerlendirildi.

## SONUÇLAR

### ATG'nin Toleransı ve Organ Disfonksiyonu

ATG infüzyonu en az 4 saat süreyle uygulandı. Anti-timosit globulin infüzyonu başlangıcından sonra 15 olgunun 11'de (%73,3) aksiller ölçümle 38°C üzerinde ateş, 4 olguda (%26,6) titreme, 2 olguda (%13,3) ürtiker ve 3 olguda (%20) baş ağrısı gözlemlendi. Üç olguda hiçbir yan etki gelişmedi (%20). Yan etkilerin tümü yapılan medikasyonlara yanıt verdi. Tüm olgularda ATG infüzyonu tamamlandı. İnfüzyondan sonraki süre zarfında ATG ile ilişkilendirilebilecek organ disfonksiyonu bulgusuna rastlanmadı.

### Greft Yetmezliği

ATG alan grupta 2 talasemi majörlü olguda greft reddi görüldü. Bu olgulardan biri posttransplant 4. ayda diğeri 10. ayda greft reddi yoluyla transplantasyon öncesi hastalıklarına dönüş (otolog rekonstitüsyon) gerçekleşti. ATG almayan grupta greft reddi veya yetmezliği görülmedi (p= 0,49).

### Yamanma

ATG alan grupta nötrofil yamanma ( $>500/\text{mm}^3$ ) zamanı ortalanca değeri 14. gün (aralık 10-20), trombosit yamanma zamanı ( $>20000/\text{mm}^3$ ) ortalanca değeri 22. gün (8-48), ATG almayan grupta nötrofil yamanma zamanı ortalanca değeri 12. gün (9-14), trombosit yamanma zamanı ortalanca değeri 17. gün (10-31) olarak bulundu. İstatistik değerlendirmesinde gruplar arasında nötrofil yamanma zamanı farklılığı anlamlı bulundu (p= 0,035). Trombosit yamanma zamanı farklılığı anlamsız saptandı (p= 0,28).



## Enfeksiyonlar

CMV reaktivasyonu ATG alan grupta 3 olguda, ATG almayan grupta bir olguda gelişti. CMV hastalığı bulgularına her iki grupta da rastlanmadı. Her iki gruptaki olguların tümünde febril nötropeni gelişti. ATG almayan grupta bulunan 3 olguda yamanma gerçekleşene kadarki süreçte bakteriyemi bulundu. Kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar her olgu için tek olup *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas spp.* ve *Staphylococcus epidermidis*'di. Kateter, cep ve tünel enfeksiyonu görülmedi. ATG alan grupta bakteriyemi saptanmadı. Septisemi her iki grupta da gözlenmedi. Yamanma gerçekleştikten sonraki ilk bir yıl içinde hiçbir olguda fungal ve CMV'den farklı sistemik viral enfeksiyon gelişmedi.

Tablo 7. Yamanma, GVHH oranları

	ATG alan grup n= 15	ATG almayan grup n= 11	P değeri
Ortanca nötrofil yamanma zamanı (aralık)	14 (10-20)	12 (9-14)	0,035
Ortanca trombosit yamanma zamanı (aralık)	22 (8-48)	17 (10-31)	0,28
Greft reddi (%)	2 (13,3)	0	0,492
Akut GVHH (%)	2 (13,3)	3 (27,2)	0,62
Evre I-II (%)	2 (13,3)	1 (9)	0,77
Evre III-IV (%)	0	2 (18,1)	0,169
Kronik GVHH (%)	1 (6,6)	3 (27,2)	0,279

Tablo 8. CMV reaktivasyonu ve bakteriyemi oranları

	ATG alan grup n=15 (%)	ATG almayan grup n=11 (%)	P değeri
CMV reaktivasyonu (posttransplant 1 yıl)	3 (20)	1 (9)	0,614
Bakteriyemi	0	3 (27)	0,122

## İmmün Rekonstitüsyon

İmmün rekonstitüsyon parametreleri transplantasyon sonrası birinci yılda ATG alan 15 olgunun 11'inde, ATG almayan 11 olgunun ise 8'inde değerlendirilebildi. ATG grubunda ki 11 olgunun birinde sadece lenfosit alt gruplarına, bir diğerinde ise sadece immünglobülin düzeylerine bakıldı. ATG alan ve almayan olguların immün rekonstitüsyon parametreleri Tablo 9 ve 10'da gösterilmektedir. Gruplar arasında İgA, İgM ve İgG düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (p değerleri sırasıyla 0,83, 0,77 ve 0,75).

Periferik kan lenfosit alt grupları değerlendirildiğinde MLS, CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD16+ hücre sayısı ve CD4/CD8 oranı parametreleri ATG alan ve almayan gruplar arasında farklılık açısından istatistiksel anlamlılık göstermiyordu. İstatistiksel veri olarak p değerleri sırasıyla 0,97, 0,63, 0,63, 0,44, 0,24, 0,14 ve 0,05 bulundu.

Tablo 9. ATG alan olguların transplantasyon sonrası birinci yılda immün rekonstitüsyon parametreleri

Yaş (yıl) / Cinsiyet	Tanı	MLS /mm <sup>3</sup>	CD3 /mm <sup>3</sup>	CD4 /mm <sup>3</sup>	CD8 /mm <sup>3</sup>	CD19 /mm <sup>3</sup>	CD16 /mm <sup>3</sup>	CD4/CD8	IgA (mg/dl)	IgM (mg/dl)	IgG (mg/dl)
Olgu 1	9 / E	AA	2964	1333*	800	978	207	0,66*	51*	151	1310
Olgu 2	4 / K	TM	2320*	1600*	672*	417*	255*	1,38	-	-	-
Olgu 3	7 / E	FAA	2860	1973	847	486	200	1,21	74	65	828
Olgu 4	14 / E	TM	6600	3036	1584	303	132*	0,9*	101	153	1820
Olgu 5	4 / K	Amega	3170	2409	855	412*	317	1,6	49	79	506*
Olgu 6	7 / E	TM	1780*	925*	302*	445	160*	2	72	45*	711
Olgu 7	11 / E	TM	2400	-	-	-	-	-	30*	46*	536*
Olgu 8	2 / K	TM	2650*	1378*	450	477*	238	2	42	60	864
Olgu 9	6 / K	TM	1560*	1076*	561*	140*	171*	1	91	296	756
Olgu 10	10 / E	AA	3000	2190	1080	270*	390	1	100	102	1510
Olgu 11	6 / K	AA	2600	1638*	728*	572*	-	1,25	38	76	1130

Lenfosit alt gruplarında \* işareti olanlar yaşa göre 25. persentilin altını, Ig'ler için 5. persentilin altını göstermektedir. MLS: Mutlak lenfosit sayısı, AA: Aplastik anemi, TM: Talasemi majör, FAA: Fanconi aplastik anemisi, Amega: Amegakaryositik trombositopeni

Tablo 10. ATG almayan olguların transplantasyon sonrası birinci yılda immün rekonstitüsyon parametreleri

Yaş (yıl) / Cinsiyet	Tanı	MLS (/mm <sup>3</sup> )	CD3 /mm <sup>3</sup>	CD4 /mm <sup>3</sup>	CD8 /mm <sup>3</sup>	CD19 /mm <sup>3</sup>	CD16 /mm <sup>3</sup>	CD4/CD8	IgA (mg/dl)	IgM (mg/dl)	IgG (mg/dl)	
Olgu 12	3,5 / K	TM	3680	2024	846*	1177	956	257	0,7*	50	224	851
Olgu 13	4 / K	TM	5720	3603	1372	1887	1315	514	0,7*	67	104	1020
Olgu 14	3 / K	TM	2700*	1404*	729*	621*	1269	324	1,2	132	72*	1420
Olgu 15	9 / K	TM	2200*	1518	660	748	352	264	0,9*	149	199	995
Olgu 16	17 / K	TM	7800	5460	1326	4134	1638	780	0,3*	49*	108	1240
Olgu 17	11 / E	TM	2300	1242*	7004	598	644	299	1,1	165	107	1080
Olgu 18	1 / K	TM	5100	3315	1173	2142	867	612	0,54*	26	25*	247*
Olgu 19	1 / K	TM	2500	1475*	675*	800	550*	-	0,84*	23	21*	394*

Lenfosit alt gruplarında \* işareti olanlar yaşa göre 25. persentilin altını, Ig'ler için 5. persentilin altını göstermektedir. MLS: Mutlak lenfosit sayısı, AA: Aplastik anemi, TM: Talasemi majör, FAA: Fanconi aplastik anemisi, Amega: Amegakaryositik trombositopeni

## TARTIŞMA

Bu çalışma pediatrik yaş grubunda yapılan allojeneik kök hücre transplantasyonu olgularında hazırlayıcı rejim içinde verilen ATG'nin GVHH sıklığı ve şiddetine, yamanmanın başlama zamanına ve transplantasyon sonrası enfeksiyon hastalıkları (CMV, diğer viral ve bakteriyel enfeksiyonlar) sıklığı üzerine yaptığı etkiyi göstermek amaçlı planlanarak retrospektif ve karşılaştırmalı olarak yapıldı.

ATG allojeneik kök hücre nakillerinde değişik hazırlayıcı rejimler içinde 10-120 mg/kg kümülatif dozlarında kullanılmaktadır (57). ATG infüzyonu ile ilişkili yan etkiler konusunda Remberger ve ark. (57) yaptığı bir çalışmada 56 çocuk alıcıda hazırlayıcı rejime eklenen ATG kullanımına bağlı tüm yan etkiler %63 oranında saptanmıştır. Bu oran çalışmamızda %73 olmasına karşın sık görülen ateş, titreme ve baş ağrısı dışındaki yan etkilerin daha düşük oranda olduğu göze çarpmaktadır. Hastalarımızda hayatı tehdit eden (dispne, solunum durması vb.) ve geçici veya kalıcı organ disfonksiyonu yapan tipte yan etkiye rastlanmamıştır. Tüm olgularda ATG infüzyonu tamamlanabilmiştir.

Olgular CMV reaktivasyonu açısından değerlendirildiğinde ATG alan grupta 3, ATG almayan grupta bir olguda pozitif sonuç saptandı. Bu bulgu istatistiksel olarak önemli bulunmadı ( $p= 0,614$ ). Buna karşın her iki gruptaki tüm olguların ve donörlerinin CMV seropozitif olduğu ve ATG'nin geçici süreyle hücrel immüniteyi baskıladığı düşünüldüğünde bu bulgu önem kazanmaktadır. Kök hücre transplantasyonu sırasında ATG kullanılan bir çalışmada da olguların CMV seropozitif olmasının reaktivasyondan bağımsız olarak sağkalım ve transplantasyon ilişkili mortaliteyi artırdığı saptanmıştır (58, 59). Çalışmamızda ATG alan grupta daha fazla CMV reaktivasyonu olmasının önemi çalışma grubundaki olgu sayısının artırılması ile daha iyi değerlendirilebilir.

Çalışmamızda transplantasyon sonrası ilk bir aylık dönemde bakteriyemi gelişen olgu sayısı ATG almayan grupta 3 iken ATG alan

grupta bu dönemde bakteriyemi saptanmamıştır ( $p= 0,122$ ). Bu veri ATG'nin yarattığı immünsüpresyonun bakteriyel enfeksiyon ve bunun kanıtı sayılabilecek bakteriyemi riskinde artış yapmadığını düşündürmektedir. Ayrıca CMV dışı diğer viral ve fungal enfeksiyonlara her iki grupta da hiç rastlanmamış olması bu düşünceyi desteklemektedir. Bu bulgular ile ATG'nin transplantasyon sırasında oluşturulan immünsüpresyona bağlı gelişen enfeksiyonları artıran bir faktör olmadığı ileri sürülebilir.

Greft reddi ATG alan 2 olguda gelişmiştir. Bu olgulardan biri 15 yaşında talasemi majör hastası olup çok fazla kan transfüzyonu almış olması greft reddini kolaylaştıran bir faktör olarak görünmektedir. İkinci olgu 3 yaşında talasemi majör hastası olup donör lenfosit infüzyonları yapılmasına karşın greft reddi engellenememiştir. (Tablo 7) Greft reddi ve yetmezliği sayıları iki grup arasında anlamlı farklılık taşımamaktaydı ( $p= 0,492$ ). Literatürde ATG'nin greft reddi veya yetmezliği oranını artırdığına dair araştırmalar bulunmaktadır (60). Martin ve arkadaşlarının (61) çalışmasında ATG uygulaması ile donör T hücrelerinin baskılanması sonucunda alıcı T hücre immünitesinin aktif kalabildiği ve bu nedenle greft yetmezliği veya reddine yol açabildiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmalar dikkate alındığında çalışma grubumuzdaki ATG alan hastalarda greft reddi olgularının olması istatistiksel olarak gösterilememiş olsa da ATG'nin rejeksiyonu artırabileceği düşüncesini desteklemektedir.

ATG steroid tedavisine dirençli ağır seyirli GVHH'da tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır (61). Aplastik anemili hastalarda allojeneik transplantasyonlarında hazırlayıcı rejime eklenen ATG ile hızlı ve kalıcı yamanma sağlayabileceği bilinmektedir. Bu hastalarda hazırlayıcı rejime ATG'nin eklenmesiyle GVHH'nın sıklığının da azaldığı farkedilmiştir (62, 63). Tüm olgularımız arasında ATG alan grupta 2, ATG almayan grupta 3 olguda akut GVHH saptandı (Tablo7). Her iki grup arasında akut GVHH yönünden anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $p= 0,62$ ). Akut GVHH'nın evrelerine göre değerlendirme yapıldığında evre I-II GVHH olgularının dağılımı ATG alan grupta 2, almayan grupta 1 olgu şeklinde iken, evre III-

IV grubundaki evre IV 2 olgu sadece ATG almayan grupta bulunmaktaydı. ATG verilen hastalarda evre III ve evre IV GVHH'na rastlanmadı ( $p=0,169$ ). İstatistiksel anlamı olmayan bu farklılık ağır seyreden morbidite ve mortalitesi yüksek olan evre III ve IV GVHH'nın önemli bir kısmının kronik GVHH'na dönüşeceği düşünülürse önem kazanmaktadır. Kronik GVHH olgularının %80'nin öncesinde akut GVHH öyküsü bulunduğu bilinmektedir (60). Bu nedenle öncelikle evre III ve IV akut GVHH önlenmesi kronik GVHH'nında önlenebileceği anlamı taşımaktadır. Akut ve kronik GVHH'nın önlenmesi hastaya fonksiyonel greft ile yüksek yaşam kalitesi sağlayacaktır. ATG alan olguların 3'nün donörlerinin ebeveyn olması minör HLA antijenlerinin uyumsuzluğu olasılığını artırmaktadır. Buna karşın bu grupta daha az GVHH olgusu olması ATG'nin GVHH'nın önlenmesinde de etkili olabileceği düşüncesini desteklemektedir. Verilen T hücre sayısı 10-20 kat fazla olmasına rağmen PKHT yapılan olgularda görülen akut GVHH sıklığının kemik iliği transplantasyonu yapılan olgulara göre yüksek olmamasının nedeni tam olarak bilinmemektedir. Ancak PKHT'da donöre kök hücre mobilizasyonu için verilen GCSF'in Th-2 (T helper-2) sayısını artırarak interlökin-4 ve interlökin-10 salgılanmasına neden olduğu bildirilmektedir. Bu sitokinlerin Th-1 hücreler tarafından salınan TNF-alfa ve interferon-gama'nın etkisinin tersine GVHH'na karşı koruyucu etki gösterdiği düşünülmektedir (65, 66). Bu bilgilerle birlikte ATG'nin PKHT'da hazırlayıcı rejime eklenmesi GVHH riskini daha da azaltarak ideal başarıya sahip ve kabul gören kök hücre transplantasyonu modifikasyonları geliştirilebilir.

PKHT'da nötrofil ve trombosit yamanma zamanının kemik iliği transplantasyonuna göre kısa olduğu bilinmektedir (67). Çalışmamızdaki ATG alan olgularda nötrofil yamanma zamanı ATG almayan olgulara göre daha uzun bulundu. Bu sonuç istatistiksel anlamlılığa sahipti ( $p=0,035$ ). Nötrofil yamanma zamanı her ne kadar ATG almayanlara göre daha uzun bulunmuşsa da ortalama 14 gün olarak bulunan bu değer genel literatür bilgilerine göre değerlendirildiğinde normal beklenen bir süre sınırı içindedir. Trombosit yamanma zamanı açısından ise gruplar arasında

farklılık yoktu ( $p= 0,28$ ). Kroger ve ark.nın (67) yaptığı çalışmada olgular ATG alanlar ve almayanlar olarak ayrılmış ve lökosit yamanma zamanının gruplar arasında farklılık göstermediği saptanmıştır. Small ve ark.nın (68) yaptığı çalışmada ise kemik iliği transplantasyonu yapılan olgularda ATG ve metilprednizolon alan grupta nötrofil yamanma zamanı ve T hücre sayısında normale dönme daha erken olmuştur. Bizim çalışmamızdaki sonuçlar göz önüne alındığında nötrofil yamanma zamanı ATG alan grupta daha geç saptanmıştır ( $p= 0,035$ ). Bu bulgu Small ve ark. nın (68) yaptığı çalışmanın sonuçlarıyla çelişmektedir. Çalışmamızda trombosit yamanma zamanı her iki grup arasında farklılık göstermiyordu ( $p= 0,28$ ). Literatür gözden geçirildiğinde ATG'nin nötrofil ve trombosit yamanma zamanında farklılık yapmasının nedeninin bilinmediği anlaşılmaktadır.

PKHT sonrası birinci yılda immünglobülin düzeyleri değerlendirildiğinde iki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmadı ( $p$  değerleri 0,83, 0,77, 0,75).

Her iki grup için MLS, CD3, CD4, CD8, CD19, CD16 ve CD4/CD8 oranı parametreleri karşılaştırıldığında sadece CD4/CD8 oranında tersine dönme parametresi ATG almayan grupta daha yüksek bulundu ( $p= 0,05$ ). Bu bulgu sınırdan anlamlılık göstermekteydi. ATG alan 10 olgunun 2'sinde ve ATG almayan 8 olgunun 6'sında bu oran tersine dönmüş olarak saptandı. ATG'nin CD4+ hücrelere CD8+ hücrelere göre daha fazla toksik etki gösterdiğini ileri süren çalışmalar vardır (69). Aynı şekilde ATG alan ve almayanlarda immün rekonstitüsyon değerlendirmesinde daha değerli kabul edilen CD4+ ve CD8+ hücre sayıları karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık bulunamadı (sırasıyla  $p=0,63$ ,  $p= 0,44$ ). İmmün rekonstitüsyon değerlendirilmesinde önerilen diğer parametreler gözönüne alındığında gruplar arasında anlamlı farklılık görülmedi.

Hazırlayıcı rejim içinde ATG'nin bulunmasının T hücre rekonstitüsyonunda gecikme ve azalma yaptığını gösteren bilgiler olmasına karşın olgularımızda bu bilgileri destekleyecek istatistiksel anlamlılık gösteren bir bulgu gözlenememiştir. Kullanılan ATG dozunun FAA ve AA olgularında daha yüksek olmasının immün rekonstitüsyonda



gecikmeye doğrudan etkili olduğu ileri sürülmektedir (70). Çalışmamızda ATG alan grupta değerlendirilen 10 olgunun 5'inde yüksek doz ATG kullanılmış olmasına rağmen immün rekonstitüsyonda bir gecikmenin gözlenmemiş olması olgu sayımızın az olması ile ilişkilendirilebilir. Olgu sayısının daha fazla olması halinde bilimsel anlamlılığı olan sonuç elde edilebilir.

Çalışmamız sonucunda pediatrik yaş grubundaki kök hücre transplantasyonlarında hazırlayıcı rejim içine eklenen ATG'nin;

1. Evre III-IV akut GVHH sıklığını azaltan etkisi görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilememiştir,
2. Nötrofil yamanma süresinde uzamaya neden olabileceğini düşündüren bulgular vardır,
3. Greft reddini artıran etkisi anlamlı değildir,
4. İmmün rekonstitüsyon üzerine istatistiksel anlamlılığı olan geciktirici veya azaltıcı etkisi yoktur,
5. Transplantasyonun ilk bir yılında fırsatçı enfeksiyonlarda artışa neden olmadığı gözlenmiştir.

Tüm bu bulgular ışığında ATG'nin maksimum istenen etki ve minimum istenmeyen etkiyi sağlayan doz, süre ve kullanım endikasyonu ile ilgili geniş ve uzun süreli çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız. ATG'nin hazırlama rejimi olarak pediatrik yaşta kullanımı ile ilgili çok az sayıda yayın olması nedeniyle çalışma sonuçlarımızın daha geniş yeni çalışmaların planlanmasına katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

## ÖZET

Son yıllarda hayatı tehdit eden birçok hastalığın tedavisinde HKHT kullanılmaktadır. Transplantasyon ve destek tedavi yaklaşımlarının gelişmesine ek olarak transplant sonrası yamanma, immün rekonstitüsyon, tolerans ve GVHH hakkındaki bilgilerin artmasıyla başarı yüzdesi yükselmiştir. Bu çalışmada amaç benzer özelliklere sahip çocuklarda PKHT hazırlayıcı rejimine eklenen ATG'nin yamanma zamanı, greft yetmezliği, GVHH ve enfeksiyon sıklığı üzerine etkisini araştırmaktır.

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı'nda 1998-2002 yılları arasında allojeneik PKHT yapılan 26 olgu çalışmaya alındı. Bu olguların 15'ine ATG'li, 11'ine ATG'siz hazırlayıcı rejim uygulandı. Transplantasyon sonrası birinci yılda gruplar arasında yamanma zamanı, akut ve kronik GVHH sıklığı, greft reddi, immün rekonstitüsyon ve enfeksiyon sıklığı parametreleri değerlendirildi.

Nötrofil yamanma zamanı ATG alan grupta alınmayan gruba göre anlamlı olarak geç gerçekleşti ( $p= 0,035$ ). Trombosit yamanma zamanı farklılık göstermemekteydi. Nötrofil yamanma zamanı literatür verileri gözden geçirildiğinde kabul edilebilir sınırlar içindeydi. Akut ve kronik GVHH sıklığı, greft reddi, immün rekonstitüsyon ve enfeksiyon sıklığı parametreleri arasında anlamlı farklılık saptanamadı. Ancak evre III-IV akut GVHH sıklığı ATG alan grupta daha az bulundu. Bu bulgunun çalışma grubunda ki olgu sayısının artırılmasıyla daha da değerli veri olma özelliğine sahip olduğu düşünüldü. ATG kullanımını kısıtlayıcı etki sayılabilecek immün rekonstitüsyonda gecikme, greft reddi ve enfeksiyon sıklığında artış çalışmamızda gruplar arasında saptanmadı.

Tüm bu bulgular ışığında ATG'nin maksimum istenen etki ve minimum istenmeyen etkiyi sağlayan doz, süre ve kullanım endikasyonu ile ilgili geniş ve uzun süreli çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız. ATG'nin hazırlama rejimi olarak pediatrik yaşta kullanımı ile ilgili çok az sayıda yayın olması nedeniyle çalışma sonuçlarımızın daha geniş yeni çalışmaların planlanmasına katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Bach FH, Albertini RJ, Joo P, Anderson JL, Bortin MM. Bone marrow transplantation in a patient with the Wiskott-Aldrich syndrome. *Lancet* 1968;2:1364.
2. Walters MC, Patience M, Leisenring W, Eckman JR, Scott JP, Mentzer WC et al. Bone marrow transplantation for sickle cell disease. *N Engl J Med* 1996;335:369-428.
3. Lucarelli G, Clift RA. Bone marrow transplantation in thalassemia. In: Forman SJ, Blume KG, Thomas ED, editors. *Bone Marrow Transplantation* Boston: Blackwell Scientific Publications; 1998. p. 1137-44.
4. Werner EJ, Stout RD, Valdez LP, Harris RE. Immunosuppressive therapy versus bone marrow transplantation for children with aplastic anemia. *Pediatrics* 1989;83:61-65.
5. Gluckman E, Auerbach AD, Horowitz MM, Sobocinski KA, Ash RC, Bortin MM et al. Bone marrow transplantation for Fanconi anemia. *Blood* 1995;86:2856-62.
6. Woodard P. New approaches to hematopoietic cell transplantation for hematological diseases in children. *Pediatric Clinics of North America* 2002; 49:5.
7. De Medeiros CR, Zanis-Neto J, Pasquini R. Bone marrow transplantation for patients with Fanconi anemia: reduced doses of cyclophosphamide without irradiation as conditioning. *Bone Marrow Transplant* 1999;24:849-52.
8. Ball LM, Lankester AC, Giordano PC, van Weel MH, Harteveld CL, Bredius RG et al. Paediatric allogeneic bone marrow transplantation for homozygous beta-thalassaemia, the Dutch experience. *Bone Marrow Transplant* 2003 Jun;31(12):1081-7.

9. Mentzer WC, Cowan MJ. Bone marrow transplantation for beta thalassemia: The University of California San Francisco experience. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 2000 22(6): 598-601.
10. ATG-Fresenius, Scientific Brochure, Fresenius Hemocare.
11. Bach FH, Sachs DH. Current concepts: immunology. Transplantation immunology. *New Engl J Med* 1987; 317: 489-92.
12. Butturini A, Seeger RC, Gale RP. Recipient immune-competent T lymphocytes can survive intensive conditioning for bone marrow transplantation. *Blood* 1986; 68: 954-956.
13. Kroger N, Zabelina T, Kruger W, Renges H, Stute N, Durken M et al. Anti-thymocyte globulin as part of the preparative regimen prevents graft failure and severe graft versus host disease in allogeneic stem cell transplantation from unrelated donors. *Ann Hematol* 2001; 80: 209-215.
14. Remberger M, Svahn BM, Hentschke P, Lofgren C, Ringden O. et al. Effect on cytokine release and graft versus host disease of different anti-T cell antibodies during conditioning for unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1999; 24(8): 823-830.
15. Bacigalupo A, Lamparelli T, Bruzzi P, Guidi S, Alessandrino PE, di Bartolomeo P et al. ATG for graft versus host disease prophylaxis in transplants from unrelated donors: 2 randomized studies from Gruppo Italiano Trapianti Midollo Osseo. *Blood* 2001; 98, 10: 2942-7.
16. Lucarelli G, Cliff RA, Galimberti M, Angelucci E, Giardini C, Baronciani D et al. Bone marrow transplantation in adult thalassemic patients. *Blood* 1999;93:1164-7.
17. Lucarelli G, Cliff RA. Bone marrow transplantation in thalassemia. In: Forman SJ, Bluma KG, Thomas ED, editors. *Bone marrow transplantation* Boston: Blackwell Scientific Publications; 1998. p. 1137-44.

18. Azuma E, Kojima S, Kato K, Matsuyama T, Yamada Y, Kondo N et al. Conditioning with cyclophosphamide/antithymocyte globulin for allogeneic bone marrow transplantation from HLA-matched siblings in children with severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant* 1997 Jun;19(11):1085-7
19. Kessinger A, Smith DM, Strandjord SE, Landmark JD, Dooley DC, Law P et al. Allogeneic transplantation of blood derived, T cell depleted hemopoietic stem cells after myeloablative treatment in a patient with ALL. *Bone Marrow Transplantation* 1989; 4: 643-646.
20. Levine JE, Wiley J, Kletzel M, Yanik G, Hutchinson RJ, Koehler M et al. Cytokine-mobilized allogeneic peripheral blood stem cell transplants in children result in rapid engraftment and a high incidence of chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25(1):13-18.
21. Champlin RE, Schmitz N, Horowitz MM, Chapuis B, Chopra R, Cornelissen JJ et al. Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. *Blood* 2000;95:3702-9.
22. Devergie A, Janin A. Graft versus host disease. In Apperley JF, Gluckman E, Gratwohl A. (eds): *The EBMT (European Blood and Marrow Transplantation) Handbook, Blood and Marrow Transplantation, 2000 Revised Edition.*
23. Horowitz MM. Uses and growth of hematopoietic cell transplantation. In Thomas ED, Blume KG, Forman SJ (eds): *Hematopoietic Cell Transplantation, 1999, ed 2.* Malden, MA, Blackwell Science.
24. Bensinger WI, Martin PJ, Storer B, Cliff R, Forman SJ, Negrin R et al. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *N Engl J Med* 2001;344:175-81 .

25. Yesilipek MA, Hazar V, Kupesiz A, Kizilors A, Uguz A, Yegin O. Peripheral blood stem cell transplantation in children with beta-thalassemia. *Bone Marrow Transplant*. 2001; 28(11):1037-1040
26. Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, Cooper S, Bard J, English D et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 3828-32.
27. Locatelli F, Rocha V, Chastang C, Arcese W, Michel G, Abecasis M et al: Factors associated with outcome after cord blood transplantation in children with acute leukemia. *Blood* 1999;93:3662-3671.
28. Ferrara JLM, Deeg HJ. Graft versus host disease. *N Engl J Med* 1991; 324:667-674.
29. Flowers ME, Kansu E, Sullivan KM. Pathophysiology and treatment of graft versus host disease. *Hem Onc Clin NA*: 1999; 13 (5);1091-1113.
30. Gee AP, Gross S, Worthington-White Da, eds. *Advances in Bone Marrow Purging and Processing, Fourth International Symposium*. New York:Wiley-Liss, 1994.
31. Sullivan KM. Graft-Versus-Host-Disease, In Thomas ED, Blume KG, Forman SJ (eds): *Hematopoietic Cell Transplantation*, 1999, ed 2. Malden, MA, Blackwell Science.
32. Majolino I, Saglio G, Scime R, Serra A, Cavallaro AM, Fiandaca T et al. High incidence of chronic GVHD after primary allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant* 1996; 17: 555-560.
33. Deeg HJ, Yamaguchi M. Acute graft versus host disease. In: K Atkinson (ed). *Clinical bone marrow and blood stem cell transplantation 2000*, second edition, Cambridge University Press. 681-700.
34. Uçkan D. Greft versus host hastalığı. *Katkı Pediatri Dergisi*, Editörleri: Kale G, Tezcan İ. 2002; 23:Sayı:5-6, Sayfa 580-591.

35. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA et al. Clinical manifestation of graft versus host disease in human recipients of marrow from HLA matched sibling donors. *Transplantation* 1974; 18:295-304.
36. Storb R, Deeg HJ, Whitehead J, Appelbaum F, Beatty P, Bensinger W et al. Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia. *New England Journal of Medicine* 1986; 314: 729-735.
37. Peters C, Minkov M, Gadner H, Klingebiel T, Vossen J, Locatelli F et al. Statement of current majority practices in graft versus host prophylaxis and treatment in children. EBMT Working Party Pediatric Diseases. *Bone Marrow Transplant* 26(4): 405-411, 2000.
38. Körbling M. Peripheral Blood Stem Cells for Allogeneic Transplantation, In Thomas ED, Blume KG, Forman SJ (eds): *Hematopoietic Cell Transplantation*, 1999, ed 2. Malden, MA, Blackwell Science.
39. Körbling M, Huh YO, Durett A, Mirza N, Miller P, Engel H et al. Körbling M, Huh YO, Durett A et al. Allogeneic blood stem cell transplantation: Peripheralization and yield of donor-derived primitive hematopoietic progenitor cells and lymphoid subsets and possible predictors of engraftment and GVHD. *Blood* 1995; 86:2842-2848.
40. Tjonnfjord GE, Steen R, Evensen SA, Thorsby E, Egeland T. Characterization of CD34+ peripheral blood cells from healthy adults mobilized by recombinant human G-CSF. *Blood* 1994; 84:2795-2801.
41. Hoglund M, Smedmyr B, Simonsson B, Totterman T, Bengtsson M. Dose dependent mobilisation of hematopoietic progenitor cells in healthy volunteers receiving G-CSF. *Bone Marrow Transplant* 1996; 93:18;19-27.

42. Lee V, Li CK, Shing MM, Chik KW, Li K, Tsang KS et al. Single vs twice daily G-CSF dose for peripheral blood stem cells harvest in normal donors and children with non-malignant diseases. *Bone Marrow Transplant*. 2000 May;25(9):931-5.
43. Anderlini P, Przepiorka D, Champlin R, Korbling M. Biologic and clinical effects of GCSF in normal individuals. *Blood* 1996; 88:2819-2825.
44. Buckner CD, Clift RA, Sanders JE, Stewart P, Bensinger WI, Doney KC et al. Marrow harvesting from normal donors. *Blood* 1984; 64: 630-634.
45. Diaz MA, Kanold J, Vicent MG, Halle P, Madero L, Demeocq F. Using peripheral blood progenitor cells for transplantation in pediatric patients: a state of the art review. *Bone Marrow Transplantation* 2000; 1291-1298.
46. Mavroudis D, Read E, Cottler-Fox M, Couriel D, Molldrem J, Carter C et al. CD34+ cell dose predicts survival, posttransplant morbidity and rate of hematologic recovery after allogeneic marrow transplants for hematologic malignancies. *Blood* 1996; 88:3223-3229.
47. Bensinger WI, Clift R, Martin P, Appelbaum FR, Demirer T, Gooley T et al. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in patients with advanced hematologic malignancies: A retrospective comparison with marrow transplantation. *Blood* 1996; 88:2794-2800.
48. Parkman R, Weinberg KI. Immunological reconstitution following hematopoietic stem cell transplantation. In: Forman SJ, Blume KG, Thomas ED, editors. *Hematopoietic Cell Transplantation, Second Edition* Boston: Blackwell Scientific Publications; 1998. p. 704-711.
49. Ottinger HD, Beelen DW, Scheulen B, Schaefer UW, Grosse-Wilde H. Improved immune reconstitution after allotransplantation of peripheral stem cells instead of bone marrow. *Blood* 1996; 88: 2775-2779.



50. Martin PJ. Overview of marrow transplantation immunology. In: Forman SJ, Blume KG, Thomas ED, editors. Hematopoietic Cell Transplantation, Second Edition Boston: Blackwell Scientific Publications; 1998. p. 1137-44.
51. Urbano-Ispizua A, Solano C, Brunet S, Hernandez F, Sanz G, Alegre A et al. Allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation: Analysis of short-term engraftment and acute GVHD incidence in 33 cases. Bone Marrow Transplant 1996; 18: 35-40.
52. Anderlini P, Przepiorcka D, Khouri I. Chronic graft versus host disease after allogeneic marrow or blood stem cell transplantation. Blood 1995; 86: (suppl 1): 109a.
53. Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, Angelucci E, Baronciani D, Durazzi SM et al. Bone marrow transplantation in thalassemia. Hematol Oncol Clin North Am 1991; 5: 549-556
54. Devergie A, Janin A. Graft versus host disease. In Apperley JF, Gluckman E, Gratwohl A. (eds): The European Blood and Marrow Transplantation Handbook, Blood and Marrow Transplantation, 2000 Revised Edition
55. Berkel AI, Ersoy F, Sanal Ö, Yeğın O. Çocukluk yaşlarında normal serum immunoglobulin ve serum kompleman değerleri. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 1985; 28: 89-102.
56. Hannet I, Erkeller-Yuksel F, Lydyard P, Deneys V, DeBruyere M. Developmental and maturational changes in human blood lymphocyte subpopulations. Immunol Today 1992 Jun;13(6):215, 218.
57. Remberger M, Mattsson J, Ringden O et al. Polyclonal anti-T-cell globulin as part of the preparative regimen for pediatric allogeneic stem cell transplantation. Pediatric Transplantation 2001; 5: 285-292.

65. Rondelli D, Anasetti C, Fortuna A et al. T cell alloreactivity induced by normal GCSF mobilized CD34+ blood cells. Bone Marrow Transplant. 1998; 21:1183-1191.
66. Kitabayashi A, Hirokawa M, Hatano Y et al. GCSF downregulates allogeneic immune responses by posttranscriptional inhibition of tumor necrosis factor-alpha production. Blood 1995; 86: 2220-2227.
67. Kroger N, Zabelina T, Kruger W, Renges H, Stute N, Rischewski J et al. In vivo T cell depletion with pretransplant anti-thymocyte globulin reduces graft-versus-host disease without increasing relapse in good risk myeloid leukemia patients after stem cell transplantation from matched related donors. Bone Marrow Transplant. 2002 Apr;29(8):683-9.
68. Small TN, Avigan D, Dupont B, Smith K, Black P, Heller G et al. Immune reconstitution following T-cell depleted bone marrow transplantation: effect of age and posttransplant graft rejection prophylaxis. Biol Blood Marrow Transplant 1997 Jun;3(2):65-75.
69. Müller T et al. Langzeitffekte mit mono und polyklonalen antikörpern bei nierentransplantierten patienten. Z Transpl Med, Suppl. 1993: 5-5.
70. Duval M, Pedron B, Rohrich P, Legrand F, Faye A, Lescoeur B et al. Immune reconstitution after hematopoietic transplantation with two different doses of pre-graft antithymocyte globulin. Bone Marrow Transplantation 2002, 30(7), 421-426.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
REKTÖRLÜĞÜ KÜTÜPHANESİ