

**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ANKARA ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
HEMATOLOJİ ONKOLOJİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
ÇOCUK HEMATOLOJİ ONKOLOJİ BÖLÜMÜ
EĞİTİM SORUMLUSU: Prof Dr. Bahattin TUNÇ**

**ÇOCUKLUK ÇAĞI HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE
NAKLİNDE GRANÜLOSİT KOLONİ UYARICI FAKTÖR İLE
UYARILMIŞ VE UYARILMAMIŞ KEMİK İLİĞİ KAYNAKLI
KÖK HÜCRE KULLANIMININ KLİNİK ÜZERİNE ETKİSİ VE
VERİCİ ÖZELLİKLERİ**

**ÇOCUK HEMATOLOJİSİ VE ONKOLOJİSİ
YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Uzm. Dr. Ali FETTAH**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Namık Yaşar ÖZBEK**

**ANKARA
MART 2014**

TEZ DEĞERLENDİRME FORMU

ADI SOYADI : Ali FETTAH

UZMANLIK DALI : Çocuk Hematolojisi ve Onkolojisi

TEZİN ADI : Çocukluk Çağı Hematopoetik Kök Hücre Naklinde Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör İle Uyarılmış ve Uyarılmamış Kemik İliği Kaynaklı Kök Hücre Kullanımının Klinik Üzerine Etkisi ve Verici Özellikleri

1- Sayfa Sayısı : 93

2- Tablo Sayısı : 38

3- Şekil Sayısı : 10

4- İstatistik Sayısı : 7

5- Literatür Sayısı ve Faydalanma Durumu : 124 - Başarılı

6- Yazı Tertibi : Başarılı

7- Konuyu Anlatma ve Konuya Hâkimiyet : Başarılı

8- İncelemenin Bilimsel Bakımdan Tutumu : Başarılı

9- Orijinal Olup Olmadığı : Orijinal

SONUÇ : Başarılı

TEZ DEĞERLENDİRME JÜRİSİ

Prof. Dr. Bahattin TUNÇ
Rehber Eğitim Görevlisi

Prof. Dr. Namık Yaşar ÖZBEK
Çocuk Hematolojisi

Doç. Dr. H. Neşe YARALI
Çocuk Hematolojisi

ONAY

Prof. Dr. Bahattin TUNÇ
Hastane Yöneticisi

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Bahattin TUNÇ'a;

Tezimin hazırlanması sırasında her aşamada yardımlarını esirgemeyen ve destekleyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Namık Özbek'e;

Mesleki eğitimimde olgunlaşmamı sağlayan ve desteğini hiç bir zaman esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç. Dr. Neşe YARALI'ya;

Tezimin ilk planlama evresinde yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen, görevine şu an Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesinde Çocuk Hematoloji bölümünde devam eden Sayın Doç. Dr. Fatih Azık'a;

Tez çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen ve laboratuvarını açan Sayın Prof. Dr. Meltem ÖZGÜNER'e ve laboratuvar teknisyeni Sayın Yasin KÖKSAL'a

Mesleki eğitimim esnasında birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, bilgileri ile bizlere destek olan Sayın Uzm. Dr. Abdurrahman KARA'ya, Sayın Uzm. Dr. Vildan Çulha'ya, Sayın Uzm. Dr. Pamir Işık'a, Sayın Uzm. Dr. Zekai Avcı'ya, Sayın Uzm. Dr. İkbâl Ok Bozkaya'ya ve aramıza yeni katılan Uzm. Dr. Hasan Fatih Çakmaklı'ya;

Onkoloji eğitimimde desteklerini esirgemeyen sayın Doç. Dr. Suna Emir'e, aramızdan ayrılan ve mesleki hayatına Memorial Hastanesinde devam eden Sayın Doç. Dr. H. Ahmet Demir'e ve Sayın Uzm. Dr. Derya Özyörük'e;

Mesleki eğitimim boyunca beraber yol aldığımız sevgili çalışma arkadaşlarıma;

Tezimin dosya inceleme aşamasında desteğini esirgemeyen Sayın Turgut ÖZTÜRK'e ve sevgili kemik iliği nakil ünitesi çalışanlarına;

Bugünlere gelmemde maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her türlü fedakarlıkta bulunan çok değerli anneme, babama ve sevgili kardeşlerime;

Sürekli desteğini hissettiğim, zor günlerimde beni yalnız bırakmayan, sabırlı, anlayışlı ve güler yüzlü hayat arkadaşşıma gönülden teşekkür ediyorum...

Uzm. Dr. Ali FETTAH

ÖZET

Çocukluk çağı hematopoetik kök hücre naklinde granülosit koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış ve uyarılmamış kemik iliği kaynaklı kök hücre kullanımının klinik üzerine etkisi ve verici özellikleri

Hematopoetik kök hücre nakli (HKHN) malign ve malign olmayan birçok hastalıkta hayat kurtarıcı tedavi yöntemidir. Granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) ile uyarılmış kemik iliği kök hücresi (G-KİKH) yüksek oranda hücre içermesi nedeniyle nötrofil ve trombosit engraftmanı zamanları hızlı olmaktadır ve kronik graft versus host hastalığı (GvHH) riski G-CSF ile uyarılmış periferik kan kaynaklı kök hücreye göre daha azdır. Bununla birlikte hematopoetik kök hücre naklinde verici demografik özellikleri ve laboratuvar değerlerinin kök hücre sayısını etkilediği de gösterilmiştir. Verici yaşının, cinsiyetinin, vücut ağırlığının, vücut kitle indeksinin, monosit, trombosit ve lökosit değerlerinin kök hücre sayısını etkilediği bildirilmiştir.

Nisan 2010-Ekim 2013 tarihleri arasında Ankara Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kemik İliği Nakil Ünitesi'nde kemik iliği kullanılarak HKHN yapılan 64 hasta ve vericisi çalışmaya alındı. Vericilerin 29'una nakil öncesi G-CSF uygulanırken 35'ine uygulanmadı. Çalışmamızda çocuklarda hematopoetik kök hücre naklinde G-CSF ile uyarılmış kemik iliği kök hücresinin nötrofil ve trombosit engraftmanı, akut ve kronik GvHH gelişimi, sağkalım ve relaps üzerine olan etkisini belirlemek, hematopoetik kök hücre verici özelliklerini tanımlanmak, G-CSF'in kök hücre üzerine olan etkisini belirlemek amaçlanmıştır.

Vericisi G-CSF alan grubun CD34 hücre sayısı ($180/\mu\text{L}$ vs. $125/\mu\text{L}$, $p:0,05$), toplam çekirdekli hücre sayısı ($7,1 \times 10^8/\text{kg}$ vs. $4,1 \times 10^8/\text{kg}$, $p: 0,0001$), BFU-E koloni sayısı ($16,49 \times 10^4/\text{kg}$ vs. $11,12 \times 10^4/\text{kg}$, $p:0,007$) ve CFU-GM koloni sayısı ($13,82 \times 10^4/\text{kg}$ vs. $7,95 \times 10^4/\text{kg}$, $p:0,017$) vericisi G-CSF almayanlara göre yüksekti. Nötrofil engraftman (14 vs. 15 gün, $p:0,699$), trombosit engraftman (25 vs. 24 gün, $p:0,994$) ve yatış süreleri (38 vs. 38 gün, $p: 0,707$) arasında iki grup arasında fark bulunmadı. Evre II-IV akut GvHH (%10,3 vs. %11,4, $p:0,809$) ve kronik GvHH (%20,7 vs. %17,1, $p: 0,720$) gelişmesi açısından iki grup arasında fark saptanmazken G-CSF

uygulanmasının akut ve kronik GvHH gelişmesi açısından risk oluşturmadığı görüldü. Ayrıca vericisi G-CSF alan ve almayan gruplar arasında sağkalım ve relaps oranlarında farklılık gözlenmedi. Bununla birlikte CD34 sayısını etkileyen en önemli faktörler verici boyu, G-CSF kullanımından bağımsız olarak nakil öncesi lökosit sayısı, G-CSF kullanımı ve G-CSF kullanımından bağımsız olarak nakil öncesi platelet sayısı olarak tespit edildi.

Çocuklarda G-CSF kullanımı kök hücre mobilizasyonu için etkin bir yöntem olup özellikle alıcı ve verici arasında boyut uygunsuzluğu olanlarda, GvHH riskini arttırmadan güvenle kullanılabileceği akılda tutulmalıdır. Ayrıca nakil öncesinde verici özelliklerinin özellikle de verici boyu ve trombosit sayısının CD34⁺ hücre sayısı hakkında bilgi verdiği göz önünde bulundurulmalıdır.

ABSTRACT

Clinical outcomes and graft characteristics in pediatric hematopoietic stem cell transplantation using granulocyte colony stimulating factor primed bone marrow and steady state bone marrow

Hematopoietic stem cell transplantation is a life saving treatment method in many malign and non malign diseases. Granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) primed bone marrow yielded high numbers of nucleated cells and had shorter neutrophil and platelet engraftment time and the risk of chronic graft versus host disease (GvHD) is lower than G-CSF primed peripheral blood stem cells. Besides that, it is evinced that stem cell number is affected by the donor's demographic and laboratoty features. It is stated that the donor's age, sex, body weight, body mass index, monocyte, platelet and leukocyte numbers can affect the stem cell number.

From April 2010 to November 2013, a total of 64 pediatric patients and HLA-matched family donors were enrolled in the study at the Bone Marrow Transplantation Unit, Ankara Children's Hematology and Oncology Research Hospital. Twenty nine patients (G-BM group) received the marrow grafts primed with G-CSF prior to marrow harvets and 35 patients (S-BM group) received the steady state marrow. In this study, we aimed to determine the effect of G-CSF primed bone marrow on the neutrophil and platelet engraftment time, incidence of acute and chronic GvHD, relapse, overall and disease free survival and to identify the features of hematopoietic stem cell donors.

Granulocyte colony stimulating factor primed bone marrow (G-BM) yielded higher numbers of CD34⁺ cells (180/ μ L vs. 125/ μ L, $p=0,05$), total nucleated cells ($7,1 \times 10^8$ /kg vs. $4,1 \times 10^8$ /kg, $p= 0,0001$), BFU-E ($16,49 \times 10^4$ /kg vs. $11,12 \times 10^4$ /kg, $p:0,007$) and CFU-GM ($13,82 \times 10^4$ /kg vs. $7,95 \times 10^4$ /kg, $p:0,017$) than steady state bone marrow (S-BM). The neutrophil engraftment (14 vs. 15 days, $p:0,699$), platelet engraftment (25 vs. 24 days, $p:0,994$), lenght of stay in hospital (38 vs. 38 days, $p: 0,707$), overall survival and disease free survival were similiar between G-BM and S-BM. Also the cumulative incidence of grade II to IV acute GvHD (%10,3 vs. %11,4, $p=0,809$) and chronic GvHD (%20,7 vs. %17,1, $p: 0,720$) were similiar

between two groups. It was seen that the usage of G-CSF didn't increase the risk of acute and chronic GvHD. On the other hand, it was identified that the most important factors that affects CD34⁺ cells are the donors height, the number of leukocyte and platelet before transplantation and G-CSF usage.

Granulocyte colony stimulating factor usage for stem cell mobilization seems to be an effective and safe method for pediatric bone marrow transplantations without the risk of increasing GvHD, especially when there is a total nucleated cell number insufficiency is considered regarding donor size. Donor characteristics such as height and pre-transplant laboratory findings, including leukocyte and platelet count, may be predictive for CD34 cell count

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	xi
TABLOLAR DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KÖK HÜCRE	3
2.1.1. Hematopoetik Kök Hücre	3
2.1.2. Hematopoetik kök hücre nişler	5
2.2. GRANÜLOSİT KOLONİ UYARICI FAKTÖR	9
2.2.1. Granülosit koloni uyarıcı faktör reseptörü	10
2.2.2. Rekombinant insan granülosit koloni uyarıcı faktör ürünleri	10
2.2.3. Rekombinant insan granülosit koloni uyarıcı faktörün hematolojik etkileri	11
2.2.4. Rekombinant insan granülosit koloni uyarıcı faktörün immünolojik etkileri	12
2.2.5. Granülosit koloni uyarıcı faktörün hematopoetik kök hücre mobilizasyonuna etkileri	13
2.2.6. Granülosit koloni uyarıcı faktörün gen ifadesine etkileri.....	14
2.2.7. Rekombinant insan granülosit koloni uyarıcı faktörün sağlıklı kişilerde görülen yan etkileri	14
2.3. HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKLİ	15
2.3.1. Allojenik hematopoetik kök hücre naklinde hematopoetik kök hücre kaynağı	16
2.3.1.1. Kemik iliği	16
2.3.1.2 Periferik kan	17

2.3.1.3. Göbek kord kanı	18
2.3.1.4. Allojenik hematopoetik kök hücre naklinde hematopoetik kök hücre kaynağı seçimi	18
2.3.2. Verici özelliklerinin hematopoetik kök hücre üzerine etkisi	21
2.3.3. Akut Graft Versus Host Hastalığı	21
2.3.3.1. Patogenez	22
2.3.3.2. Risk faktörleri ve insidans	23
2.3.3.3. Klinik bulgular	24
2.3.3.4. Akut graft versus host hastalığı tanısı ve klinik derecelendirilmesi.....	25
2.3.3.5. Graft versus host hastalığının önlenmesi	26
2.3.3.6. Akut graft versus host hastalığının tedavisi	28
2.3.3.7. Akut graft versus host hastalığının prognozu	28
2.3.4. Kronik Graft Versus Host Hastalığı	28
2.3.4.1. Patogenez	29
2.3.4.2. Risk faktörleri ve insidans	29
2.3.4.3. Klinik bulgular	30
2.3.4.4. Kronik graft versus host hastalığının skorlaması ve derecelendirilmesi	32
2.3.4.5. Kronik graft versus host hastalığının tedavisi	32
2.3.4.6. Kronik graft versus host hastalığının nakil sonuçlarına etkisi .	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Çalışma grubunun seçilmesi	35
3.2. Çalışma gerekçesi ve amacı	35
3.3. Geriye dönük olarak araştırılan veriler	35
3.4. Vericinin saptanması ve seçimi	37
3.5. Hematopoetik kök hücre toplanmasından önce G-CSF uygulanması	37
3.6. Hematopoetik kök hücre toplanması ve hazırlanması	38
3.7. Hazırlık rejimleri	39
3.8. Hastaların izlemi	40
3.9. Tanımlamalar	41

3.10. İstatistiksel Analiz	43
4. BULGULAR	45
4.1. Hasta özellikleri	45
4.2. Vericilerin özellikleri	45
4.3. Kök hücre özellikleri	47
4.4. Hazırlık rejimi ve graft versus host hastalığı profilaksisi	53
4.5. Klinik Özellikler	54
4.5.1. Engrafman	54
4.5.2. Transfüzyon	55
4.5.3. Graft versus host hastalığı	56
4.5.4. Mukozit	58
4.5.5. Sinüzoidal obstruksiyon sendromu	59
4.5.6. Ateş ve enfeksiyon	59
4.5.7. İmmüsupresif tedavi	61
4.5.8. Kimerizm	61
4.5.9. Nakil sonrası hastalık durumu ve sağkalım	62
4.5.10. Yaşam analizleri	66
4.5.11. Olaysız yaşam analizleri	66
5. TARTIŞMA	68
5.1. Nakil özellikleri	68
5.2. Vericilerin özellikleri	68
5.3. Kök hücre özellikleri	70
5.4. Klinik özellikler	73
5.4.1. Engrafman	73
5.4.2. Transfüzyon ve Enfeksiyon	74
5.4.3. Graft versus host hastalığı	74
5.4.4. Mukozit	75
5.4.5. Nakil sonrası hastalık durumu ve sağkalım	76
5.4.6. Yaşam analizleri	77
6. SONUÇLAR	78
7. KAYNAKLAR	81

KISALTMALAR

ACD	: Asit sitrat dekstroz
aGvHH	: Akut graft versus host hastalığı
BFU-E	: Eritroid burst forming unit
CFU-GM	: Granülosit monosit colony forming unit
CLP	: Ortak lenfoid progenitörler
CMP	: Ortak miyeloid progenitörler
CMV	: Sitomegalovirüs
CXCR-4	: Kemokin reseptörü-4
ÇDG	: Çeyrek değerler genişliği
DH	: Dendritik hücre
FAA	: Fanconi aplastik anemisi
FGF-4	: Fibroblast büyüme faktörü-4
G-CSF	: Granülosit koloni uyarıcı faktör
GSCFR	: Granülosit koloni uyarıcı faktör reseptörü
G-KİKH	: Granülosit koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış kemik iliği kök hücre
GMP	: Granülosit monosit öncülleri
G-PKKH	: Granülosit koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış periferik kan kök hücre
GSO	: Genel sağkalım oranı
GvHH	: Graft versus host hastalığı
GVT	: Graft versus tümör etkisi
HKH	: Hematopoetik kök hücre
HKHN	: Hematopoetik kök hücre nakli
HLA	: İnsan lökosit antijen
HSV	: Herpes simplex virus
ICAM-1	: interselüler adezyon molekülü-1
IL	: İnterlökin
IFN-γ	: Interferon gama
İ-KİKH	: İstirahat halindeki kemik iliği kök hücre
kGvHH	: Kronik graft versus host hastalığı
LFA-1	: lenfosit fonksiyon ilişkili antijen-1

MEP	: Megakaryosit eritrosit öncülleri
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MPP	: Multipotent progenitör
NE	: Nötrofil engraftmanı
OSO	: Olaysız sağkalım oranı
PECAM-1	: Platelet endotelyal hücre adezyon molekülü
PLGF	: Plasental büyüme faktörü
SDF-1	: Stromal hücreden derive faktör-1
STAT-5	: Transkripsiyon 5'in sinyal çoğaltıcı ve aktivatörü
TE	: Trombosit engraftmanı
Th1	: T yardımcı hücre tip 1
Th2	: T yardımcı hücre tip 2
TM	: Talasemi major
TNF-α	: Tümör nekroz faktör alfa
TPN	: Total parenteral nutrisyon
VA	: Vücut ağırlığı
VCAM	: Vasküler hücre adezyon molekülü
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VYA	: Vücut yüzey alanı

TABLÖLAR DİZİNİ

		Sayfa No
Tablo 2.1	Hematopoetik kök hücre aktivitesini düzenleyen moleküller.....	8
Tablo 2.2	Akut graft versus host hastalığının klinik evrelendirilmesi	27
Tablo 2.3	Akut graft versus host hastalığının genel evrelendirilmesi.....	27
Tablo 2.4	Kronik graft versus host hastalığı derecelendirilmesi	32
Tablo 3.1	Hasta tanılarına göre kullanılan hazırlık rejimleri	39
Tablo 3.2	Pesaro sınıflandırma sistemi	42
Tablo 4.1	Hastaların nakil öncesi özellikleri	45
Tablo 4.2	Kök Hücre vericilerinin demografik verilerinin G-CSF kullanımına göre dağılımı	46
Tablo 4.3	Kök hücre vericilerin özellikleri	46
Tablo 4.4	Vericilere uygulanan biyobenzer filgrastim ve lenograstim karşılaştırılması	47
Tablo 4.5	Alıcılardaki hastalık tanılarının vericilerin G-CSF kullanımına göre sınıflaması	47
Tablo 4.6	G-CSF alan ve almayan gruplar arasında kök hücre ürününün karşılaştırılması	48
Tablo 4.7	Kök hücre ürün özelliklerinin filgrastim ve lenograstim grupları arasında karşılaştırılması	49
Tablo 4.8	Kemik iliği CD34 sayısı ile korelasyon saptanan değişkenler	49
Tablo 4.9	Kök hücre kaynaklı BFU-E ve CFU-GM koloni sayılarının vericisinde G-CSF kullanımına göre karşılaştırılması	51
Tablo 4.10	Nakil öncesi ve sonrası Hgb değerlerinin karşılaştırılması	52
Tablo 4.11	Kök hücre toplama esnasında ve sonrasında görülen komplikasyonların karşılaştırılması	52
Tablo 4.12	Hematopoetik kök hücre nakli öncesinde kullanılan hazırlık rejimleri	53
Tablo 4.13	Graft versus host profilaksisi kapsamında kullanılan ilaçların dağılımı	53

Tablo 4.14	G-CSF alan ve almayan grupların nötrofil engraftmanı, trombosit engraftmanı ve yatış sürelerinin karşılaştırılması	54
Tablo 4.15	Tanı gruplarına göre hastaların nötrofil engraftmanı, trombosit engraftmanı ve yatış sürelerinin karşılaştırılması.....	54
Tablo 4.16	Granulosit koloni uyarıcı faktör alan ve almayan hastaların tanı gruplarına göre karşılaştırılması	55
Tablo 4.17	Tanı gruplarına göre eritrosit süspansiyon, trombosit süspansiyon ve TPN günlerinin karşılaştırılması	56
Tablo 4.18	Vericisi G-CSF alan ve almayan hastaların engrfatman sendromu gelişmesi açısından karşılaştırılması	56
Tablo 4.19	Vericisi G-CSF alan ve almayan hastaların akut GvHH gelişmesi açısından karşılaştırılması	57
Tablo 4.20	Akut GvHH'de organ tutulumlarının evrelere göre dağılımı	58
Tablo 4.21	Kronik GvHH'de organ tutulumunun hastalığın ciddiyetine göre dağılımı	58
Tablo 4.22	Vericisi G-CSF alan ve almayan hastaların mukozit evreleri.....	59
Tablo 4.23	Vericisi G-CSF alan ve almayan gruplar arasında ateş epizotlarının dağılımı	60
Tablo 4.24	Enfeksiyon nedenlerinin dağılımları	60
Tablo 4.25	İmmüsupresif tedavi azaltma ve kesme günlerinin hasta gruplarına göre dağılımı	61
Tablo 4.26	Aylara ve tanı gruplarına göre verici kimerizm yüzdelerinin dağılımları	61
Tablo 4.27	Talasemi major hastalarının kimerizm yüzdelerinin değerlendirilmesi	62
Tablo 4.28	Vericisi G-CSF alan ve almayan grupların nakil sonrası durumlarının karşılaştırılması	62
Tablo 4.29	Hastaların takip sürelerinin, relaps ya da otolog geri dönüş zamanının ve mortalite zamanın gruplar arasında karşılaştırılması	63
Tablo 4.30	İkinci kez nakil yapılan hastaların özellikleri	64

Tablo 4.31	Vericinin G-CSF alıp almamasına göre Hastaların sağkalım özellikleri	65
Tablo 4.32	Hastaların sağkalım özelliklerinin tanı gruplarına göre dağılımı ..	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1 Kök hücre tipleri	4
Şekil 2.2 Hematopoetik hiyerarşi modeli	6
Şekil 2.3 Endosteal nişte osteoblastlar ile HKH'ler arasında etkileşimin grafiksel gösterimi	7
Şekil 2.4 Endostel ve vasküler niş arasındaki etkileşim	9
Şekil 2.5 Granülosit koloni uyarıcı faktörün kristal yapısı ve disülfid bağları	9
Şekil 2.6 Granülosit koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış HKH mobilizasyonu	14
Şekil 2.7 Graft versus host hastalığının patofizyolojisi	23
Şekil 4.1. Kemik iliği kök hücre CD34 sayısı ile verici yaşı, verici vucut ağırlığı, verici boyu, verici VYA, lökosit sayısı, platelet sayısı, monosit sayısı ve G-CSF kullanımı arasındaki korelasyon grafikleri	50
Şekil 4.2 Akut ve Kronik GvHH gelişme zamanı	57
Şekil 4.3 Hasta gruplarının sağkalım ve olaysız sağkalım oranları	67

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hematopoetik kök hücre nakli (HKHN) malign ve malign olmayan birçok hastalığın tedavisinde kullanılan bir tedavi yöntemi olup, hastalıklı veya hasarlı olan kemik iliğini yeniden düzenlemek amacıyla hematopoetik kök hücrelerin verilmesi işlemidir. Hematopoetik kök hücre nakli allojenik, otolog ve singeneik kök hücre nakli olmak üzere 3 tiptir (1).

Allojenik HKHN'de doku grubu uygun olan vericilerden alınan kordon kanı, kemik iliği veya periferik kan kaynaklı hematopoetik kök hücreler (HKH) belli bir hazırlık rejimi sonrası alıcıya verilmektedir (2). Hematopoetik kök hücre naklinin ilk yapıldığı yıllarda istirahat halindeki kemik iliği kök hücreleri (İ-KİKH) daha sık kullanılmakta iken, son zamanlarda özellikle erişkinlerde granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) ile uyarılmış periferik kan kök hücrelerinin (G-PKKH) kullanımı artmıştır. Granülosit-koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış PKKH'leri yüksek oranda çekirdekli hücre ve CD34⁺ hücre içerdiğinden alıcılarda nötrofil ve trombosit engraftmanı İ-KİKH ile yapılan nakillere oranla daha hızlı olmaktadır (3,4). Ancak içerdiği yüksek T lenfosit oranları nedeniyle G-PKKH ile yapılan nakillerde graft versus host hastalığı (GvHH) gelişme olasılığı artmaktadır (2,5). Bu nedenle bazı araştırmacılar GvHH olasılığını arttırmadan nötrofil ve trombosit engraftmanını hızlandırmak amacıyla G-CSF ile uyarılmış kemik iliği kök hücrelerinin (G-KİKH) kullanımını gündeme getirmiştir. Granülosit-koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış kemik iliği kök hücreleriyle, İ-KİKH karşılaştırıldığında G-KİKHlerinin CD34⁺ hücre sayısı 1,4-1,7 kat, monosit sayısı 2,1 kat daha fazla bulunmuş, ancak CD4⁺CD25⁺ regülör T hücrelerde değişiklik saptanmamıştır (6). Granülosit-koloni uyarıcı faktör kullanımı yardımcı T hücresi (Th) 1'in Th2'ye polarize olmasına sebep olmakta ve T hücre duyarsızlığı oluşturmaktadır. Bunun sonucunda interferon- γ (IFN- γ) seviyesi azalırken interleukin (IL)-4 seviyesi artmaktadır (6,7). Ayrıca GvHH patogenizinde etkin olan ve T hücre migrasyonu sağlayan *very late antijen-4* (VLA-4), interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), L-selektin ve lenfosit fonksiyon ilişkili antijen-1 (LFA-1) gibi adezyon moleküllerinin düzeylerinin G-KİKH'de azaldığı gösterilmiştir. Bu bilgiler ışığında G-KİKH kullanımı sonrasında G-PKKH benzer

şekilde erken nötrofil ve trombosit engraftmanı gözlenirken GvHH gelişiminin daha az olduğu bildirilmiştir (8).

Çeşitli çalışmalarda KİKH'deki CD34⁺ hücre sayısı üzerinde verici demografik özellikleri ve bazı periferik kan değerlerinin etkili olabileceği gösterilmiştir. Bu değişkenler yaş, cinsiyet, ırk, vücut ağırlığı (VA), vücut yüzey alanı (VYA), verici monosit, trombosit ve lökosit değerleridir (9-12).

Çalışmamızda birincil olarak G-KİKH'leri ile İ-KİKH kullanımının nötrofil ve trombosit engraftmanı, transfüzyon sıklığı, akut ve kronik GvHH gelişmesi, hastanede yatış süresi, relaps, genel sağkalım ve olaysız sağkalım oranları gibi parametreler üzerine etkisinin araştırılması ve birbiriyle karşılaştırılması planlanmıştır. İkincil olarak ise HKH vericilerinin yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı, boy, vücut yüzey alanı, G-CSF kullanımdan önce ve sonraki kan parametrelerinin, toplanan KİKH üzerine etkisinin araştırılması planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KÖK HÜCRE

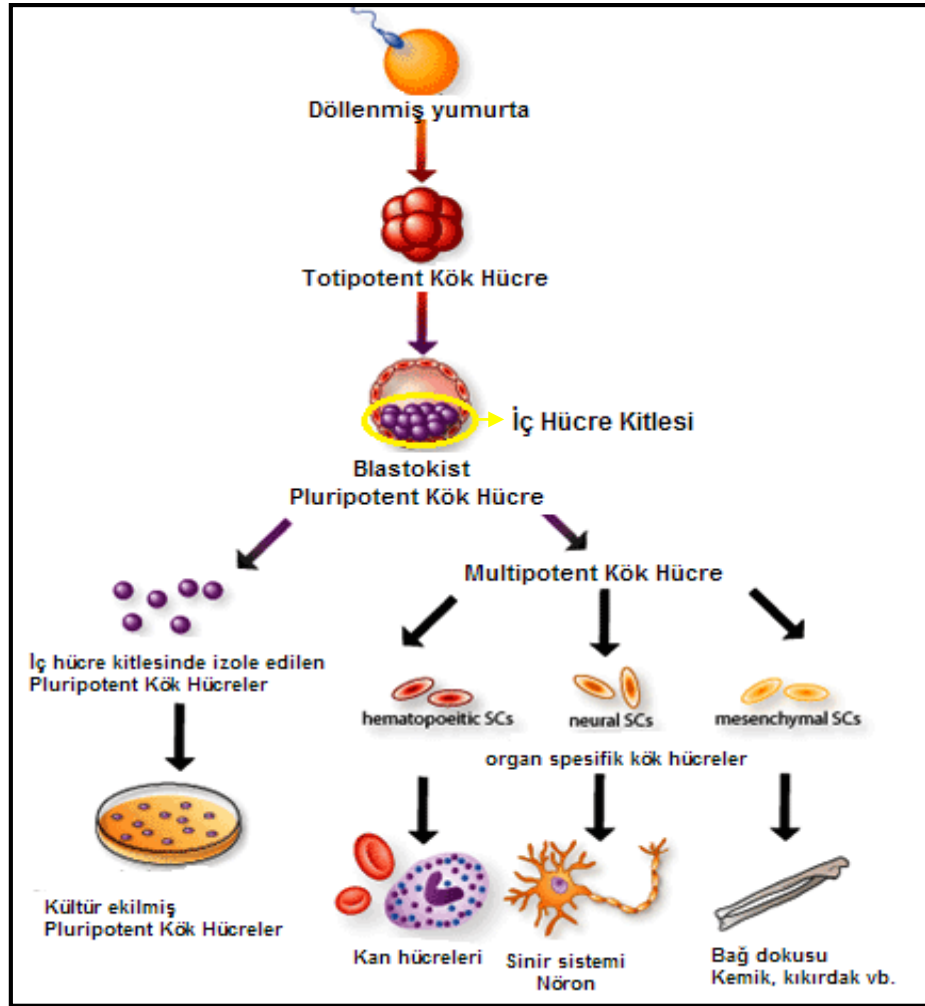
Kendini yenileyebilen, uzun süre bölünebilen ve aynı zamanda gereksinime göre farklılaşarak diğer doku hücrelerine dönüşebilen hücrelere "kök hücreler" denir. Farklılaşmamış kök hücrelerin, kendi karakteristik özelliklerini taşıyan en az bir benzer hücre oluşturabilme (self renewal); tek bir hücreden birden fazla hücre serisine farklılaşabilme (multi-lineage differentiation) ve bir dokunun işlevsel olarak yeniden yapılandırılmasını sağlama özellikleri vardır (13). Bir dokudan elde edilen ve o dokuya adanmış kök hücrelerin, uygun ortam ve uyarılarla farklı dokuların hücrelerine dönüşebilme yetenekleri ise *plastisite* olarak tanımlanmıştır (14). Kök hücreler, pratikte totipotent, pluripotent ve multipotent olmak üzere üç grup altında tanımlanmaktadır (15) (Şekil 2.1).

Totipotent kök hücreler, tam ve işlev gören canlı bir yapıyı oluşturan tüm hücrelere dönüşebilecek potansiyele sahip, ilk embriyonel hücredir. Bu anlamda zigot ve embriyonun 5. gününe kadar varolan tüm blastomerlere "totipotent hücreler" denir (13). Pluripotent kök hücreler ise embriyonun blastosist evresinde varolan hücrelerdir. Blastosist; trofoblastik hücreler, blastosöl ve iç hücre kitlesi olmak üzere üç yapıdan oluşmuştur. Embriyonik kök hücrelere kaynaklık eden iç hücre kitlesinden elde edilen hücreler pluripotent kök hücreler olup, yaklaşık 200 hücre türüne dönüşebilecek potansiyele sahiptir, ancak işlev gören bir organizmayı oluşturmazlar (16). Multipotent kök hücreler ise özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşır ve erişkin kök hücrelerine dönüşürler. Erişkin kök hücreleri, bulundukları dokuda var olan tüm hücre tiplerini üretebilirler.

2.1.1. Hematopoetik Kök Hücre

Hematopoetik sistem aşamalı olarak farklılaşma yeteneğine sahip multipotent ve unipotent kök hücreleri içerir (18). Bu farklılaşma süreci, normal fizyolojik koşullar altında geri dönüşümsüzdür. Yüksek düzeyde proliferasyon yeteneğine sahip bu hücreler, farklı fonksiyonel özelliklerde olgun kan hücrelerinin yapımını sağlarlar (18, 19). Hematopoetik kök hücreler (HKH) bir veya birden çok seriye farklılaşmaya adanmış progenitör hücrelerden oluşan hiyerarşik düzenin ana kaynağını oluştururlar.

Hiyerarşinin en tepesinde olan HKH'lerin proliferasyon yeteneği en düşük düzeyde, ancak kendi kendini yenileyebilme (self renewal) yeteneği en üst düzeydedir (18-20). Hiyerarşik düzende HKH'den sonra yeralan multipotent progenitör (MPP) hücreler bütün serilere farklılaşma potansiyelini sürdürürler ancak kendi kendilerini yenileme yetenekleri sınırlıdır. Sayıca HKH'lerden daha fazla olan MPP hücreler gelişim potansiyeli daha kısıtlı oligopotent progenitörlere kaynak oluştururlar.



Şekil 2.1 Kök hücre tipleri (17)

Oligopotent progenitör hücreler ortak lenfoid progenitör (Common Lymphoid Progenitors, CLP) ve ortak miyeloid progenitörlerdir (Common Myeloid Progenitors, CMP) ve hematopoetik hiyerarşi içerisindeki ana dallanma noktalarını temsil ederler. Sonuçta oligopotent hücreler, bütün olgun kan hücrelerini oluşturacak seri-sınırlı öncül hücrelerin oluşumunu sağlarlar. Ortak lenfoid progenitörler B ve T lenfositler,

dendritik hücreler ve doğal öldürücü (*natural killer*; NK) hücreleri içeren olgun lenfoid efektör hücreleri oluşturur. Ortak miyeloid progenitörler ise tüm miyeloid, eritroid hücreler, plateletler ve yine dendritik hücreleri oluşturma yeteneğine sahiptirler (18-20). Gelişimin daha ileri evrelerinde CMP hücreler megakaryosit eritrosit öncülleri (*Megakaryocytic/Erythroid Precursor*, MEP) ve granülosit monosit öncülleri (*Granulocytic/Monocytic Precursor*, GMP) olmak üzere iki farklı hücre grubuna dönüşürler. Farklılaşma yeteneği sınırlı GMP'ler esas olarak olgun nötrofil, monosit ve makrofaj oluşumunu sağlarken daha az oranda eozinofil, bazofil ve mast hücrelerini meydana getirirler (20). Megakaryosit eritrosit öncülleri ise eritrositlerin ve daha sonra trombositleri meydana getirecek megakaryositlerin oluşumundan sorumludur (20). Böylece hematopoetik sistemin hiyerarşik düzeni içerisinde bütün serilerde kan hücrelerinin oluşumu ve idamesi gerçekleşmiş olur (Şekil 2.2).

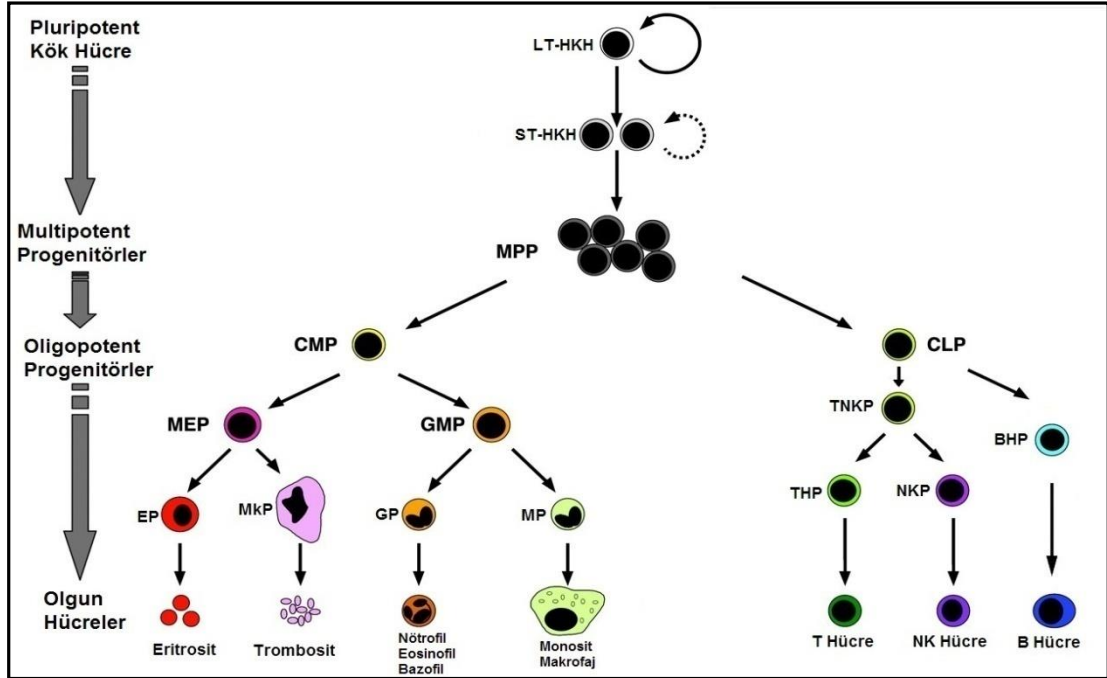
2.1.2. Hematopoetik kök hücre nişleri

Kök hücrelerin kendini yenileme ve farklılaşma süreçlerini sağlaması ve sürdürebilmesi için özelleşmiş bir mikroçevre gerekmektedir. Stromal hücreler, fibronektin, kollajen ve proteoglikan içeren ekstrasellüler matriks molekülleri ve endosteal alanda dizilmiş osteoblastlardan oluşan özel bu özel mikroçevre 'kök hücre nişi' olarak adlandırılır (21-23). Fonksiyonel bir nişin temel özelliği kök hücrenin sessizliği ile aktivitesi arasındaki dengeyi sağlamaktır (24). Hematopoetik kök hücrelerin kendilerini yenilemesi, hücre siklusunun G_0 evresinde sessiz olarak kalmaları, adezyonları, proliferasyonları, olgunlaşmaları, farklılaşmaya yönelmeleri, Kİ'den ayrılıp dolaşıma girmeleri (*mobilizasyon*) dolaşımdan Kİ'ye geri dönmeleri (*homing*) ve yerleşimleri (*engraftment*) gibi süreçler bu nişlerde sağlanmaktadır (22, 25).

Kemik iliğinde HKH'lerin farklı fonksiyonlarını düzenleyen endosteal niş ve vasküler niş olmak üzere iki ayrı niş bulunur. Bu iki niş birbirinden fiziksel olarak tamamen ayrı olmayıp birbirleriyle bağlantılıdır. Hematopoetik kök hücreler farklı koşullar altında iki nişten birini kullanırlar (22).

Endosteal nişteki özgül mikroçevre HKH'lerin sessiz (G_0) fazda, endosteal nişe tutunmuş halde farklılaşmadan yaşamlarını sürdürmelerini ve yerleşimlerini

sağlarlar. Endosteal nişin temel bileşeni ve fonksiyonel niş hücresi oldukları gösterilen ilk hücreler, mezenkimal kök hücrelerden gelişen ve kemik oluşumunda rol alan osteoblastlardır (22, 26).

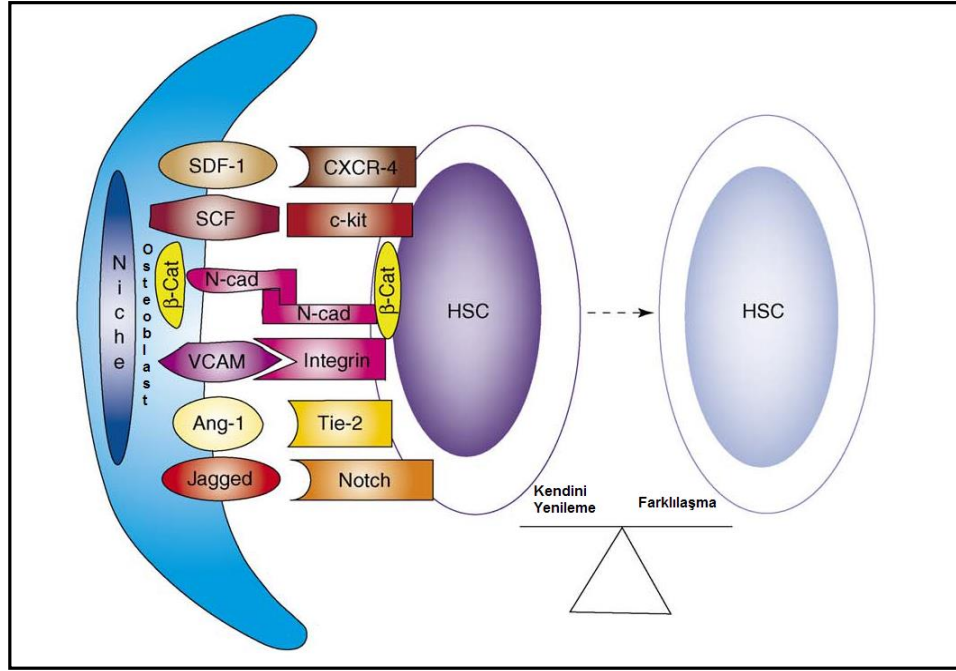


Şekil 2.2. Hematopoetik hiyerarşi modeli (27)

LT-HKH: Uzun süreli (long term) hematopoetik kök hücre, ST-HKH: Kısa süreli (short term) hematopoetik kök hücre, MPP: Multipotent progenitor, CMP: Ortak (common) miyeloid progenitörler, CLP: Ortak (common) lenfoid progenitor, MEP: Megakaryosit eritrosit öncülleri, GMP: Granülosit monosit öncülleri, TNKP: T ve doğal öldürücü (NK) hücre öncülleri, BHP: B hücre öncülleri, MkP: Megakaryosit, EP: Eritrosit öncülleri, MP: Monosit öncülleri, GP: Granülosit öncülleri, THP: T hücre öncülleri, NKP: Doğal öldürücü hücre öncülleri.

Osteoblastlar, HKH ile olan adezyon molekülleri ve sentezledikleri bazı sitokinler aracılığıyla etkileşerek HKH module ederler. Osteoblast ve HKH arasında iletişim sağlayan bazı önemli adezyon molekülleri; stromal hücreden derive faktör-1 (SDF-1 veya CXCL-12), kemokin reseptörü-4 (CXCR-4 veya CD184), Anjiopoetin-1/ Tie-2 büyüme faktörü/reseptör kompleksi, kök hücre faktörü (SCF veya C-kit), her iki yüzeyde bulunan N-kaderin, Jagged/Notch reseptör/reseptör kompleksi, vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM) (CD106)/integrin reseptör kompleksidir (Şekil 2.3). Ayrıca salınan bazı sitokin ve ligandlar; G-CSF, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), plasental büyüme faktörü (PLGF), CD44, intraselüler hücre adezyon molekülü-1 (ICAM-1), very late antigen-4 (VLA-4), platelet endotelial

hücre adezyon molekülü (PECAM-1), lenfosit fonksiyon asosiye antijen (LFA-1) gibi sitokinler HKH fonksiyonlarını regüle ederler (Tablo 2.1) (28).



Şekil 2.3. Endosteal nişte osteoblastlar ile HKH'ler arasında etkileşimin grafiksel gösterimi (25).

Kemik iliğinde fonksiyonel özellikleri ile önemli bir diğer hücre grubu da osteoklastlardır. Osteoklastlar hasar, stres, inflamasyon durumlarında çevrelerindeki proteolitik aktiviteyi artırırlar. Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ve katepsin salgılayarak endostel nişteki olgunlaşmamış hematopoetik progenitör hücreleri (HPH) bağlayan CXCL-12'yi yıkıma uğrattırırlar ve bu hücrelerin dolaşıma girmelerine neden olurlar. Normal koşullarda endosteal nişteki CXCL12, HPH üzerinde bulunan CXCR4 reseptörü ile etkileşerek HPH havuzunun devamlılığında, trafiğinde ve kök hücrelerin mobilizasyonunda rol oynar (25).

Kemik iliğinde bulunan sinus damar sistemi, HKH ve progenitör hücrelerin yaşamlarını, çoğalmalarını, değişik serilere farklılaşmalarını, olgunlaşmalarını sağlayan özgül bir niş olan "vasküler niş"tir (28). Vasküler niş, hematopoetik kök ve progenitör hücrelere hormon, besin, oksijen ve büyüme faktörlerince zengin bir ortam sağlayarak HKH fonksiyonlarını düzenler. Buradaki HKH'lerin sürekli olarak kandaki faktörlere maruz kalması, dolaşımdan gelen sinyalleri (stres, inflamasyon,

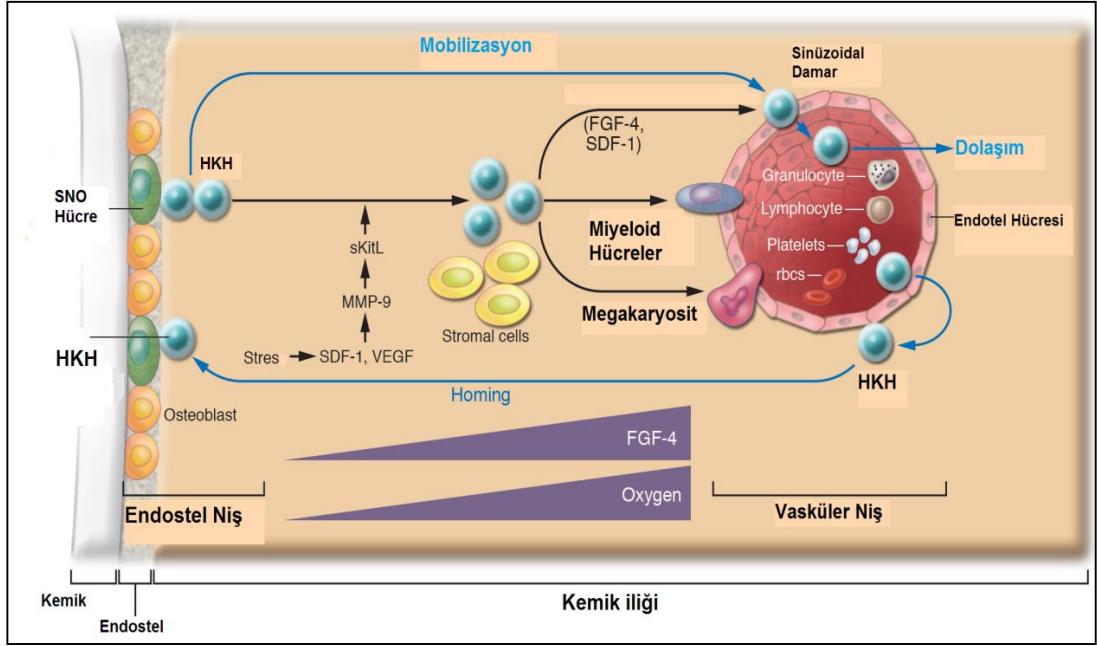
sitotoksik ajanlar, vb.) anında algılamalarını ve yanıt vermelerini sağlar (25). Vasküler niş HKH'lerin mobilizasyonunu ve dolaşımdan kemik iliğine dönerek yerleşmelerini (homing) sağladığı gibi, bu süreçte gerçekleşen transendotelyal göçlerine de yardımcı olur (22).

Tablo 2.1. Hematopoetik kök hücre aktivitesini düzenleyen moleküller (25)

Molekül	Fonksiyonu
Anjiopietin-1, Tie-2, N-Kaderin	HKH'nin endotel nişte sessiz (G0) olarak kalmasını sağlar
G-CSF	SDF-1'i regüle eder, HKH mobilizasyonunda görev alır
SDF-1 (CXCL12)	Stromal hücrelerde sentezlenir, HKH ile etkileşir
CXCR-4	HKH'de eksprese olur, CXCL-12'nin reseptörü
VLA-4, LFA-1, integrinler, yüzey adezyon moleküller	HKH mobilizasyonunda aktive olurlar
MMP-9, MMP-2 ve sKitL	G-CSF ve SDF-1 tarafından indüklenir ve mobilizasyonda etkindirler
FGF-4	Vasküler ve endosteal niş arasında gradient farkına göre HKH regüle olur (FGF-4 arttığında HKH mobilizasyonu gerçekleşir)
VEGF, PLGF	HKH mobilizasyonunda etkin

CXCR-4: kemokin reseptörü-4, FGF-4; fibroblast büyüme faktörü-4, G-CSF; granülosit koloni uyarıcı faktör, LFA-1; lenfosit fonksiyon ilişkili antijen-1, MMP2: matriks mettaloproteinaz-2, MMP-9; matriks mettaloproteinaz-9, PLGF; plasental büyüme faktörü, SDF-1: stromal hücre derive faktör-1, sKitL; kök hücre faktör ligandı, VEGF; vasküler endotelyal büyüme faktörü, VLA-4; çok geç antijen-4.

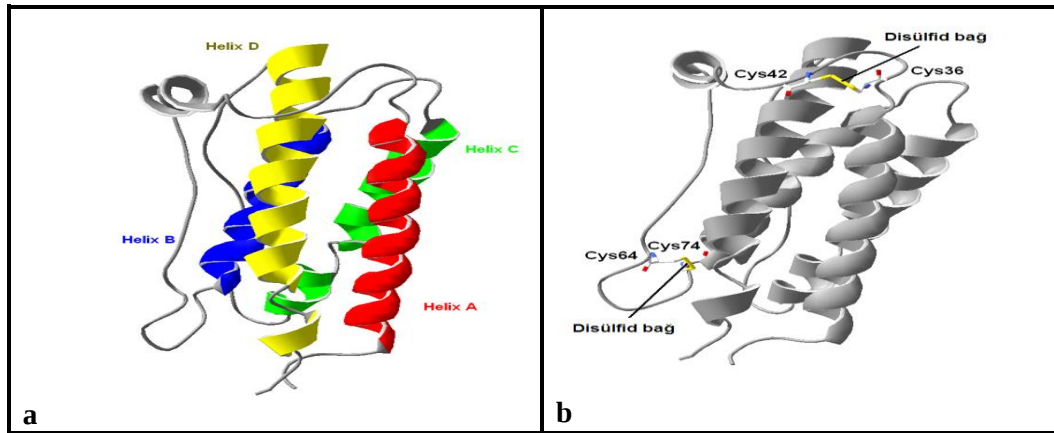
Hematopoetik progenitor hücrelerin vasküler nişe toplanması temel düzeyde fibroblast büyüme faktörü-4'e (*fibroblast growth factor-4*, FGF-4), oksijen değişimine ve CXCL12'ye bağımlıdır. Vasküler nişte yüksek, osteoblastik nişte düşük olan FGF-4 ve oksijen basıncı, HKH veya HPH'lerin vasküler alana toplanmasında etkilidir (25). Hematopoetik kök hücrelerin transendotelyal göçünde CXCL12 etkin bir kemotaktik faktördür (22). Kemik iliği endotel hücreleri de CXCL12, VCAM-1 ve selektinler ifade ederek HKH'lerin mobilizasyonunda, dolaşımdan kemik iliğine dönmelerinde ve yerleşimlerinde rol alırlar (Şekil 2.4) (28).



Şekil 2.4. Endosteal ve vasküler niş arasındaki etkileşim (22)

2.2. GRANÜLOSİT KOLONİ UYARICI FAKTÖR

Granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) hematopoezi ve doğal immün sistemi düzenleyici temel hematopoetik büyüme faktörüdür. Sitokin sınıf I süperailesi üyesi olan G-CSF, kromozom 17q11-22 üzerinde lokalize tek gen şeklinde kodlanır. Granülosit koloni uyarıcı faktör proteini 174 aminoasit içeren ve 20 kD moleküler ağırlığı olan sistein (Cys)-36 ve Cys-42 ile Cys-64 ve Cys-74 arasında iki adet disülfid bağa sahip, Treonin-133 (Thr133)'den glikolize olmuş, dört antiparalel α -heliks yapısına sahip bir glikoproteindir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Granülosit koloni uyarıcı faktörün kristal yapısı (a) ve disülfid bağları (b)

Glikolizasyonu nötral pH'da proteinin stabilitesini sağlayarak degradasyona uğramasını engeller, ancak biyolojik aktivitesi için gerekli değildir (29-31). Monosit, makrofaj, fibroblast ve endotelial hücreler tarafından üretilir (32). Granülosit koloni uyarıcı faktörün hematopoetik sistem üzerine etkileri; normal hematopoetik kök hücrelerin çoğalması ve farklılaşmasını indüklemesi, radyoterapi ya da kemoterapiye bağlı myelosupresyon sonrasında nötrofillerin yeniden yapılanmasını artırması, matür nötrofillerin efektör fonksiyonlarının aktivasyonu ve kemik iliği kök hücrelerinin periferik kana geçmelerini sağlamaktır (30-31).

Granülosit koloni uyarıcı faktör vücutta doğal olarak bulunan bir sitokindir ve enfeksiyon gibi uyaranlarla düzeyi anlamlı ölçüde artmaktadır. İnflamatuvar uyaranlar [IL-1, IL-6, lipopolisakkarit (LPS), tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ve IL-17], kemik iliği stroma hücrelerinden, endotelial hücrelerden, makrofajlardan ve fibroblastlardan G-CSF üretimini artırır (33). Erişkinlerde normal kan düzeyi 25.3 pg/ml bulunmuş ve enfeksiyon durumunda düzeyinin yaklaşık 30 kat arttığı gösterilmiştir (34).

2.2.1. Granülosit koloni uyarıcı faktör reseptörü

Granülosit koloni uyarıcı faktör reseptörü (G-CSFR, CD114) sitokin reseptör süperailisine ait tek zincir polipeptid yapısında tip I membran proteinidir. Kromozom 1p35-p34.3 üzerinde tek gen olarak kodlanır ve erken miyeloid öncüllerin, matür granülositlerin, monosit/makrofajın, trombositlerin, endotelial hücrelerin insan T ve B hücrelerinin ve hematopoetik olmayan bazı dokuların (insan plasenta, trofoblastik hücreler, nöronlar, hepatositler), üzerinde ifade edilmektedir (32, 35, 36). Mieloid serinin matürasyonu ile G-CSFR ifadesi artış gösterir; bu ifade en fazla nötrofillerde izlenir. Granülosit koloni uyarıcı faktör reseptörü sinyal yolları kompleks olup janus kinaz (JAK) tirozin kinaz ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) gibi transkripsiyon faktörlerini içerir (37, 38).

2.2.2. Rekombinant insan granülosit koloni uyarıcı faktör ürünleri

Granülosit koloni uyarıcı faktör rekombinant teknoloji ile üretilmektedir ve iki formu bulunmaktadır. *Lenograstim*, Çin hamster over hücrelerinden elde edilmiş olup, yapı ve konformasyonu normal insan G-CSF'in benzeri olarak oluşturulmuştur ve 174 aminoasit içermektedir. Biyolojik G-CSF molekülüne benzer şekilde Thr133

pozisyonunda karbonhidrat zinciri (D-galaktoz, N-asetilgalaktozamin, N-asetilnöraminikasit) bulunur. Glikolizasyon in vitro ısı, pH ve serum proteazlarına karşı stabilitesini korumasını sağlamaktadır. Diğer bir form olan *filgrastim* ise *Escherichia coli*'ye insan G-CSF geninin eklenmesiyle rekombinant DNA teknolojisi ile kültür ortamında üretilmiş olup 175 aminoasit içermektedir. İnsan DNA dizi analizine göre düzenlenmiş, N-terminal ucuna metionin eklenmiş, ancak glikolize olmayan bir proteindir. Biyolojik G-CSF molekülü ile yapısal olarak benzemediği için etkisini doz bağımlı olarak göstermektedir (39).

2.2.3. Rekombinant insan granülosit koloni uyarıcı faktörün hematolojik etkileri

Nötrofil kinetiği ve fonksiyonu: Rekombinant insan G-CSF'i miyeloid öncü hücrelerinin proliferasyonunu uyarır ve kemik iliğinden nötrofil salınımını artırır. Sekretuar vezikülleri mobilize eder ve spesifik-azurofilik granüllerin içeriğinin salınımını artırır. Nötrofillerin yüzeyinde CD11b/CD18 antijen sunumunu, respiratuar yıkım metabolizmasını ve hücrel elastaz aktivitesini içeren fagositer fonksiyonlarını artırır (32, 40).

Monositler: Rekombinant insan G-CSF uygulaması periferik kandaki monosit sayısını yaklaşık olarak 3 kat artırır ve monositleri aktive eder. Monositlerin proinflamatuvar faktörlere verdiği IL-10 cevabını güçlendirir. G-CSF almış bireylerdeki güçlü IL-10 cevabı, alloantijene ve CD3 uyarısına karşı T hücre cevabını baskılar (41).

Eozinofiller: Rekombinant insan G-CSF'i sağlıklı bireylere verildikten sonra dolaşımdaki eozinofillerde artış, eozinofil granül proteinlerinin mobilizasyonunda ve eozinofil adezyonunda artış olmaktadır (42).

Trombositler ve koagülasyon: Rekombinant insan G-CSF'nin sağlıklı bireylerde trombosit fonksiyonları üzerine olan etkisi ile ilgili veriler sınırlıdır. Shimoda ve ark. (43) trombosit üzerinde G-CSF reseptörlerini tanımlamışlardır ve ADP ile indüklenmiş trombosit agregasyonunda artış göstermişlerdir. Buna karşın Leblanc ve ark. (44) ise G-CSF uygulanması sonrasında trombosit agregasyonunda azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Koagülasyon sistemi üzerine olan etkileri daha detaylı araştırılmış ve plazmadaki endotel aktivasyon belirteçlerinde (trombomodulin ve von Willebrand faktör antijenleri), kan koagülasyon aktivasyonunda (fibrinojen-trombin, trombin-antitrombin III kompleksi, D-dimer) artış olduğu gösterilmiştir. Bu değişiklikler tedavi kesildikten 1 hafta sonra düzelmektedir (45). Başka bir çalışmada faktör VIII ve fibrinojen düzeyi artarken protein C ve protein S aktivitelerinin azaldığı saptanmıştır (46). Bu bulgular, rekombinant insan G-CSF'in bazı donörlerde geçici protrombotik eğilim yapabileceğini göstermektedir. Bu nedenle tromboz risk faktörü taşıyan sağlıklı kemik iliği vericilerinde dikkatli kullanılması önerilmektedir (30).

2.2.4. Rekombinant insan granülosit koloni uyarıcı faktörün immünolojik etkileri

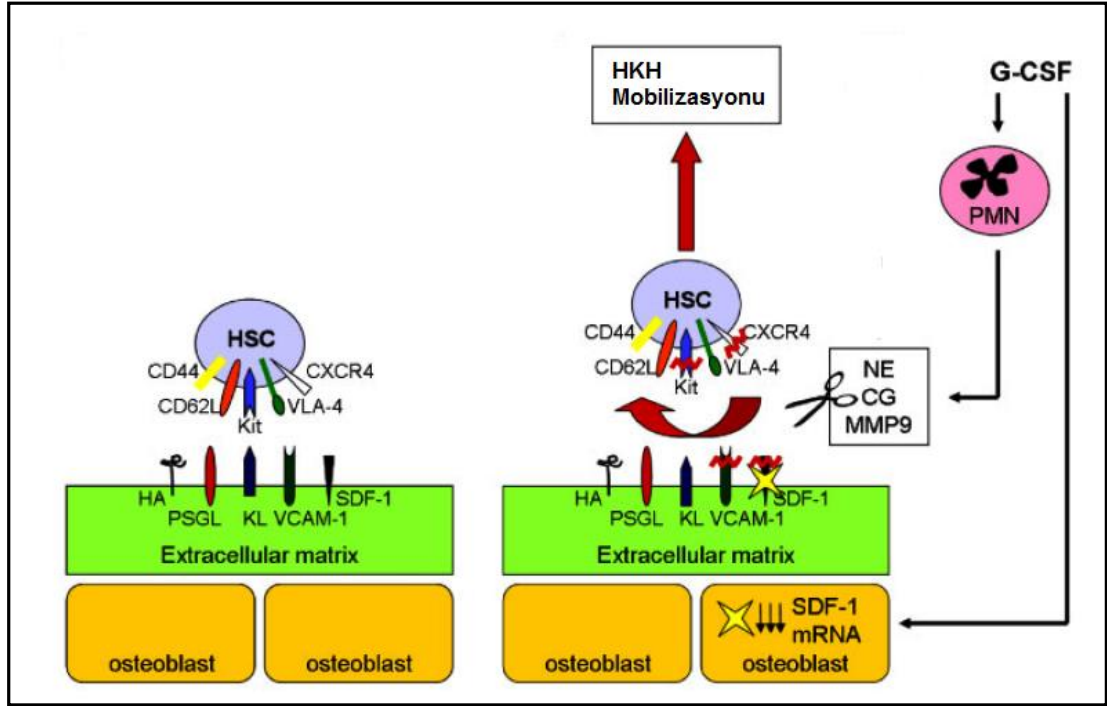
Granülosit koloni uyarıcı faktör, T hücre reaktivitesi ve antijen sunan hücrelerin fonksiyonunu modifiye ederek immün sistemi etkilemektedir. T hücre üzerinde G-CSFR ifadesi tartışmalıdır. G-CSF uyarısı olmadan T hücrelerinde G-CSFR ifadesi gözlenmez iken G-CSF uyarısından sonra ifade ettiği gösterilmiştir. Farmakolojik dozlarda G-CSF, GATA-3 ve Stat5 gibi T hücre immün düzenleyici genlerini aktive edebilmekle beraber direk olarak T hücrelerince üretilen proinflamatuvar sitokinleri de inhibe edebilmektedir (35).

Naif T hücreleri antijen sunan hücreler tarafından T hücre reseptörlerinin antijenik uyarılmalarına bağlı olarak Th₁ ve Th₂ olmak üzere iki farklı tipe farklılaşmaktadır. Yardımcı T hücresi 1 IFN γ üretir ve intrasellüler patojenlere karşı olan immünitenin bir parçasıdır. Yardımcı T hücresi 2 IL-4, IL-5 ve IL-13 üretir ve ekstrasellüler patojenlere karşı humoral immünitenin elemanıdır (47). Granülosit koloni uyarıcı faktör GATA-3'ü aktive ederek IL-4 seviyesini artırır. Ayrıca Stat5'ide aktive ederek IL-4'den bağımsız olarak Th₂ polarizasyonu artırmaktadır. Bu etkilere ilaveten GATA-3 ifadesi Th₁ farklılaşmasını da inhibe etmektedir. Tüm bu etkilerin sonucunda Th₂ yönünde polarizasyon meydana gelmekte ve T hücre toleransını indüklemektedir (6, 7). Klinik çalışmalar G-CSF ile uyarılmış donörlerde CD4⁺ T hücrelerince salınan ve anti-inflamatuvar bir sitokin olan IL-10'un salınımının arttığını, inflamatuvar sitokilerden IL-4, IL-2 ve IFN- γ salımının ise azaldığını göstermiştir (7, 35).

2.2.5. Granülosit koloni uyarıcı faktörün hematopoetik kök hücre mobilizasyonuna etkileri

Kök hücrelerin mobilizasyonu sırasında kemik iliğinde kemokinler, sitokinler, proteazlar ve adezyon molekülleri arasında iletişimlerin gerçekleştiği biyolojik olarak oldukça karmaşık bir mikroçevre ortamı oluşur. Lenfosit fonksiyon ilişkili antijen-1, VLA-4, CXCR4, c-kit, CD44 (glikozaminoglikan hyaluronan reseptörü) ve Mac-1 gibi adezyon molekülleri hematopoetik kök hücreyi kemik iliği mikroçevresine bağlarlar (48). Bu bağların sitokinler tarafından koparılması kök ya da öncü hücrelerin dolaşıma çıkmasına neden olur. Hematopoetik kök hücre mobilizasyonunda özellikle SDF-1 (CXCL12) ve *growth regulated protein β* (GRO- β)'nin önemli rolleri vardır. Bunlardan SDF-1 esas olarak kemik iliği stromal hücreleri tarafından ifade edilir ve kök hücreler üzerinde bulunan CXCR4 reseptörü ile birleşir. Bu ikisi arasındaki ilişki kök hücre göçünde önemlidir. SDF-1 ve CXCR4'e karşı nötralizan antikörler HKH'nin mobilizasyon, göç ve yuvalanmasını belirgin şekilde azaltır. Diğer bir kemokin olan GRO- β 'nin CXCR2 reseptörüne bağlanması da kemik iliğinde kök hücre yerleşiminde rol oynar. GRO- β varyantları HKH mobilizasyonunu artırmaktadır (48).

Granülosit koloni uyarıcı faktör aracılı mobilizasyon modelinde, ilk basamak olarak G-CSF etkisiyle olgun hematopoetik hücrelerin çoğunlukla nötrofillerin ve monositlerin aktivasyonunu; ikinci basamakta ise aktive olmuş hücrelerden HPH/HKH'lerin mobilizasyonunu sağlayacak ikincil sinyallerin oluşumunu kapsamaktadır. Granülosit koloni uyarıcı faktör ile çoğalan ve aktive olan nötrofillerden kemik iliği stromasına yüksek miktarda aktif formda proteazlar salınmaktadır. Bunlar nötrofil elastaz (NE), kathepsin G (CG), MMP-2 ve MMP-9 olarak sayılabilir. Salınan proteazlar HKH/HPH'leri kemik iliği nişlerinde tutmakta görevli adezyon ve kemoatraktan moleküllerinin SDF-1 (CXCL12) ile CXCR4, VCAM-1 ile VLA-4 ($\alpha 4\beta 1$ integrin), HA ile CD44, P-selektin glikoprotein ligand 1 ile CD62L ve c-kit ile SCF birbiriyle bağlantısını keserek HKH mobilizasyonunu gerçekleştirir (Şekil 2.6) (49). Ayrıca G-CSF uyarısı ile endostel nişte bulunan osteoblastlar baskılanır ve osteoblastlardan salınan ve HKH'leri G_0 fazında tutan SDF-1 sentezinde azalma olurken periferik kan SDF-1 seviyelerinde artış gözlenmektedir (50).



Şekil 2.6. Granülosit koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış HKH mobilizasyonu (49)

Katepsin (CG), kemokin reseptör-4 (CXCR4), hematopoetik kök hücre (HSC), hyaluronik asit (HA), kit ligand (KL), matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9), nötrofil elastaz (NE), stromal hücre derive faktör-1 (SDF-1), Vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM), çok geç antijen-4 (VLA-4), P-selektin glikoprotein ligand-1 (PSGL)

2.2.6. Granülosit koloni uyarıcı faktörün gen ifadesine etkileri

Granülosit koloni uyarıcı faktör alan bireylerde birçok genin ifadesinde geçici değişimler saptanmıştır. Özellikle nötrofil aktivasyonu ile ilgili genlerin ifadesi artarken, T hücre reseptörü ve HLA kompleksi gibi immün cevapta rolü olan genlerin ifadesi azalmıştır. İki ay içinde bu genlerdeki değişimlerin düzeldiği görülmüştür (30). Başka bir çalışmada da G-CSF etkisiyle antijen sunumunda, kostimulasyonda, T hücre aktivasyonunda ve sitolitik cevapta görev alan genlerin ifadesinde azalma saptanmıştır. Granülosit koloni uyarıcı faktör uygulaması ile potansiyel hücrel immün baskılayıcı özellikler gözlenmektedir (51).

2.2.7. Rekombinant insan granülosit koloni uyarıcı faktörün sağlıklı kişilerde görülen yan etkileri

Granülosit koloni uyarıcı faktörün kısa dönem yan etkileri; kemik ve eklem ağrısı, baş ağrısı, ateş, miyalji, uykusuzluk, rinit, döküntü, halsizlik, trombositopeni,

enjeksiyon bölgesinde reaksiyonlar, serum laktat dehidrogenaz, alanin aminotransferaz ve alkalen fosfataz seviyelerinde artış olup genellikle hafif ve orta düzeydedir (37,52). Murata ve ark. (53) G-CSF yan etkilerinin kadınlarda daha fazla görüldüğünü tespit etmişlerdir. Chen ve ark. (54) yaptıkları başka bir çalışmada ise vücut yüzey alanı >25 olanlarda yorgunluk, miyalji, atralji ve terlemenin daha fazla görüldüğünü bildirmişlerdir. Granülosit koloni uyarıcı faktör kullanımı sonrasında dalak boyutlarında büyüme olan kişiler saptanmış; bu büyümenin %10-20 oranında (55) ve bir başka çalışmaya göre ise 1,4 cm (56) olduğu ve 10 gün içinde dalak boyutlarının normale döndüğünü izlenmiştir. Granülosit koloni uyarıcı faktörün kısa ya da uzun süreli kullanım sonucu nadir olmasına rağmen inme, myokardiyal enfarktüs, otoimmün hastalıklar, akut akciğer hasarı ve splenik rüptür gibi yaşamı tehdit edici yan etkiler görülebilmektedir (57). Literatürde sağlıklı donörlere allojenik periferik kök hücre nakli amacıyla verilen G-CSF sonrasında 6-10.günlerde spontan splenik rüptür olan vakalar bildirilmiştir (58).

Granülosit koloni uyarıcı faktörün korkulan bir başka uzun dönem etkisi lösemi gelişimidir. Lösemik hücrelerde G-CSF reseptörü gösterilmesi nedeniyle G-CSF kullanımı ile anormal bir lösemik klon gelişimi çok tartışılmıştır. Ancak klinik çalışmalarda G-CSF'in lösemi gelişimi üzerine net bir etkisi gösterilememiştir (59,60). Akut miyeloid lösemili hastalarda plasebo kontrollü yapılan bir çalışmada G-CSF kullanan grup ile plasebo kullanan grup arasında tedavi sonuçları açısından fark saptanmamıştır (59). Granülosit koloni uyarıcı faktör kullanılan konjenital nötropeni hasta grubunda lösemi gelişimi bildirilmiş olsa da doğal hastalığın seyrinde lösemi gelişebileceği için direkt G-CSF ile ilişki kurulamamıştır (61) Bazı çalışmalarda G-CSFR'de mutasyon gelişerek lösemiye dönüştüğü bildirilmiştir. Ancak G-CSF kullanılan üç sağlıklı kök hücre vericisinde median 1,2, 4 ve 6,7 yıl sonra lösemi geliştiği de bildirilmiştir (62, 63).

2.3. HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKLİ

Hematopoetik kök hücre nakli (HKHN) hastalıklı veya hasarlı olan kemik iliğini yeniden kurmak amacıyla hematopoetik kök hücrelerin genellikle damar yolu kullanılarak verilmesi işlemidir. Hematopoetik kök hücre naklinde amaç bir kanseri veya hastalığı hazırlama rejimi kullanarak yok etmek ve sonrasında boşalan kemik

iliği kavitesine hastanın damar yolundan verilen kök hücrelerin yerleşmesini sağlamaktır. Bazen de hematopoetik bozukluk olmayan kalıtsal hastalıklarda enzim salınımı sağlayarak klinik iyileşme sağlarlar (1).Hematopoetik kök hücre verici tiplerine göre HKHN genel olarak üç gruba ayrılmaktadır.

1. *Allojenik kök hücre nakli*; sağlıklı, doku grubu uygun başka bir insandan alınan HKH'lerin hazırlık rejimi sonrasında alıcıya verilme işlemidir.
2. *Otolog kök hücre nakli*; hastanın kendisinden toplanan HKH'lerin hazırlık rejimi sonrasında tekrar hastaya verilmesi işlemidir.
3. *Singeneik kök hücre nakli*; genetik olarak tam uyumlu tek yumurta ikizlerinden yapılan nakil şeklidir.

Hematopoetik kök hücre nakli hematolojik malignitelerde, kemik iliği yetmezliklerinde, immün yetmezliklerde, konjenital hematolojik hastalıklarda ve bazı solid tümörlerde kabul edilen etkin bir tedavi yöntemi olduğu gibi bazı nörolojik ve kalıtsal metabolik hastalıklarda da hastalığı düzeltebilmekte ya da iyileşme sağlayabilmektedir (64).

Allojenik HKHN'de kök hücre kaynağı olarak; kemik iliği, periferik kan veya göbek kord kanı kullanılmaktadır (2).

2.3.1. Allojenik hematopoetik kök hücre naklinde hematopoetik kök hücre kaynağı

2.3.1.1. Kemik iliği

Kemik iliği kök hücre yönünden zengin bir dokudur ve çoğu zaman G-CSF gibi uyarıcı bir ilaç kullanılmadan toplanan ürün hacmi içerisinde engraftman için yeterli sayıda kök hücre elde edilebilmektedir. Kemik iliği kaynaklı kök hücre toplanırken vericiden genellikle maksimum 20 ml/kg hacim aşmayacak şekilde volüm toplanmaya çalışılır. Eğer 20 ml/kg aşan düzeylerde kök hücre toplanacaksa transfüzyon ihtiyacı ortaya çıkabilir ve verici için risk oluşturabilir. Buna karşın hasta ağırlığının yüksek, verici ağırlığının düşük olması durumunda veya hasta ve nakil koşullarına bağlı olarak fazla hücre gerekmesi durumunda başarılı engraftman elde etmek için G-CSF gibi bir mobilizan ajan kullanılabilmektedir (65, 66).

Kemik iliği kaynaklı kök hücre toplanırken ağrı hissedilmemesi için toplama işlemi yeterli anestezi altında ve ameliyathane koşullarında yapılmaktadır. Oldukça düşük riskli bir girişimdir. Buna rağmen vericiler işlem öncesinde ayrıntılı muayene ve tetkiklerden geçirilmektedir. Her iki posterior iliak krestten kemik iliği aspirasyon iğneleri kullanılarak çoklu aspirasyon yöntemi ile 5 cc volumu aşmayacak şekilde kemik iliği toplanır. Çoğu aspirasyonlar aynı iğne deliğinden, farklı kemik iliği alanlarından yapılır (64). Kemik iliği kök hücre vericilerinde işleme bağlı olarak toplama yerinde ağrı, halsizlik, hipotansiyon, bel ağrısı, boğaz ağrısı, baş ağrısı, ateş, bandaja bağlı ağrı, bulantı-kusma gibi minor yan etkiler görülmektedir (67,68). Görülen yan etkiler toplan ürün hacmi ve işlem zamanı ile ilişkili bulunmuştur. Ürün toplama esnasında ciddi yan etkiler nadir (%0,3) olsa da görülebilmektedir. Bu nadir yan etkiler derin ven trombozu, pulmoner embolizm, ciddi bakteriyel enfeksiyon, kardiyak aritmi, serebral enfarkt ve miyokard infarktüsü olarak sayılabilir (68).

2.3.1.2. Periferik kan

Hematopoetik kök hücreler kemik iliğinden periferik kan dolaşımına çok az miktarda geçmektedir. Aferez işlemi ile HKH'den zenginleştirilmiş periferik mononükleer hücreler toplanabilmektedir. Kanda dolaşan kök hücrelerin sayısını arttırmak amacıyla vericilere işlemden önce 4-5 gün, genellikle 10µg/kg/gün dozunda G-CSF uygulanmaktadır. Bu işlem allojenik nakilde vericiye, otolog nakillerde ise hastanın kendisine uygulanır. Antekübital venlerden birinden veya geçici bir kateter ile santral venden alınan kan kesintisiz olarak aferez cihazına ulaşmakta ve cihaz tarafından kök hücreden zengin çekirdekli hücreler ayrıldıktan sonra kanın geriye kalanı vericiye geri verilmektedir. Herhangi bir anestezi gerektirmeyen bu işlem birkaç saatte tamamlanır. Aferez işlemi, hedeflenen mononükleer veya CD34⁺ hücre sayısına ulaşana kadar tekrarlanır. Elde edilen kök hücreler alıcıya hemen verilir veya otolog nakillerde sonradan nakledilmek üzere dondurularak saklanır (69).

Periferik kan kaynaklı HKH toplanmasında da G-CSF kaynaklı yan etkiler görülebilmektedir. Aferez işlemine bağlı minor yan etkiler; venöz damar yolu kullanımına bağlı kanama, morarma ve hematoma, santral venöz kateter kullanıma bağlı pnömotoraks, asit-sitrat-dekstroza kullanımına bağlı hipokalsemi, perioral uyuşma, parestezi ve karpopedal spazm, aferez işlemi sonrasında periferik lökosit sayısında azalma ve buna bağlı nötropeni ve lenfopeni, hematokrit seviyesinde

azalma ve trombositopeni olarak sıralanabilir. Ciddi yan etkiler ise G-CSF kullanımı sonrasında splenik rüptür, otoimmün tiroidit gözlemlenirken aferez işlemine bağlı olarak kardiyak olmayan göğüs ağrısı ve miyokard enfarktüsü görülebilmektedir (70).

2.3.1.3. Göbek Kord Kanı

Göbek kordon kanından toplanan kök hücreler bu tip nakil için kullanılmaktadır. Kordon kanı hematopoetik kök hücrelerden zengin bir yapıya sahiptir. Kordon kanı nakli toplanmasının kolay olması, verici için risk oluşturmaması, bankalardan temininin mümkün olması, GvHH ve HLA uyumsuzluğunda toleransın diğer kök hücre kaynaklarına göre daha iyi olması nedeni ile giderek kullanımının yaygınlaştığı görülmektedir.

Kordon kanı toplandıktan sonra işlemlerden geçirilir ve sıvı nitrojende yıllarca saklanabilir. Hasta için HLA uygun verici adayı bulunmaması durumunda dünyada bulunan çok sayıda kordon kanı bankaları taranarak hasta için uygun verici bulunmaya çalışılır. Bulunduğu takdirde, kordon kanları depolanıp saklanmış olduğu için temini kolaydır ve nakil süreci hızlı işler. Ancak kök hücre sayısı düşük olduğu için daha çok küçük çocuklarda tercih edilir. Son zamanlarda bu kısıtlamayı aşmak için çift göbek kordon kanı nakli yapılmaya başlanmıştır (71).

2.3.1.4. Allojenik hematopoetik kök hücre naklinde hematopoetik kök hücre kaynağı seçimi

Hematopoetik kök hücre naklinin yapıldığı ilk yıllarda HKH kaynağı olarak uyarılmamış kemik iliği kullanırken 90'lı yıllardan sonra özellikle erişkin otolog ve allojenik nakillerde G-PKKH kullanımı artmıştır. Ayrıca doku uygun vericisi olmayan ve aciliyet gerektiren durumlarda kord kanı kullanılarak HKHN yapılmaya başlanmıştır.

Periferik kan kaynaklı HKH'nin yüksek çekirdekli hücre içermesi, toplanması için anestezi gerektirmemesi, nötrofil (NE) ve trombosit engraftman (TE) sürelerinin kısa olması, hastanede yatış süresinin ve enfeksiyon sıklığının az olması başlıca avantajlarıdır. Granülosit koloni uyarıcı faktör kullanımı, kök hücre toplanması için

kateter ihtiyacı olması, küçük çocuklarda kateter takılması ve aferez yöntemi ile kök hücre toplamanın zor olması, kök hücre ürünüde T lenfosit sayısının yüksek olması ve kronik GvHH görülme sıklığının artması ise dezavantajlarıdır (2-5).

Kord kanı HKH açısından zengin olup matür T lenfosit sayısı az olduğu için GvHH görülme sıklığı azdır. Ancak çekirdekli ve CD34⁺ hücre sayılarının az olması nedeniyle engraftman olasılığının daha az oluşu, engraftman sürelerinin diğer kök hücre kaynaklarına göre daha uzun olması, nakil ilişkili enfeksiyonların daha çok görülmesi ve greft kaybı en önemli dezavantajlarıdır (2,3).

Granülosit koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış kemik iliği kaynaklı HKH'lerin çekirdekli hücre sayısı yüksek olup İ-KİKH ile karşılaştırıldığında engraftman daha erken olmaktadır. Ayrıca G-KİKH kullanılan nakillerde kronik GvHH sıklığının, G-PKKH kullanılan nakillere göre daha az olduğu görülmüştür. G-KİKH kullanmanın dezavantajları ise G-CSF kullanımıyla ilgili yan etkiler, ürün toplanması için anestezi gerekmesi ve toplama işlemine bağlı vericide yan etkilerin görülmesi olarak sıralanabilir (2,5).

Erişkin hastalarda nakil yapılan ilk yıllarda HKH kaynağı olarak kemik iliği kullanılırken yıllar geçtikçe G-PKKH kök hücre kaynağı olarak kullanılmaya başlanılmıştır. Granülosit koloni uyarıcı faktör kullanılarak elde G-PKKH'nın İ-KİKH'ne oranla 3 ile 10 kat CD34⁺ ve CD3⁺ hücre içerdiği gösterilmiştir (72). Ayrıca G-CSF kullanımına bağlı olarak T hücrelerde Th₂ yönüne kayma olduğu tespit edilmiştir (8). Randomize çalışmalar sonucunda G-PKKH'nın İ-KİKH'e göre yaşam süresi ve olaysız yaşam sürelerinin daha iyi olduğu bildirilirken kronik GvHH rakamlarında artış tespit edilmiştir (73, 74). Ayrıca yapılan benzer çalışmalarda G-PKKH kullanımı sonrasında gelişen kronik GvHH vakalarının daha uzun sürdüğü ve immunsupresif tedaviye daha az yanıt verdiği gösterilmiştir (75). Bu bulgular ışığında bazı araştırmacılar kronik GvHH morbiditesi ve mortalitesinin yüksek olması nedeniyle G-PKKH kullanımının yararlı olan erken etkilerinin ortadan kalktığını düşünmektedirler. G-PKKH kullanımı sonucu kronik GvHH sık görüldüğü için özellikle talasemi major, Fanconi aplastik anemi ve immun yetmezlik hastalarda kullanılmamasını öneren yayınlar mevcuttur (76). G-PKKH kullanımının özellikle

yüksek malignitelerde kök hücre kaynağı olarak kullanılmasının yararlı olabileceğini belirtmişlerdir(5).

Granülosit koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış kemik iliğinin CD34⁺ hücre sayısı İ-KİKH oranla 1,4-1,7 kat, monosit sayısı 2 kat fazla iken, CD4⁺CD25⁺ T regülatör hücre sayısı değişmemektedir (77-79). Dentritik hücre (DH) 2 oranı artarken DH₁ oranı değişmemektedir ve DH₂/DH₁ oranı DH₂ lehine artmıştır. Bu artış Th₁ yönünden Th₂ kayışına yol açmakta ve T hücre duyarsızlığını (*hyporesponsiveness*) uyarmaktadır (37, 78, 79). Ayrıca CD4⁺ ve CD8⁺ lenfositlerdeki VLA-4, ICAM-1 ve LFA-1 düzeyleri baskılanmaktadır (77,79).

Kronik GvHH riskini arttırmadan engraftman sürelerini hızlandırmanın G-KİKH kullanılarak mümkün olduğu düşünülmüştür (8). Ayrıca G-KİKH kullanılan hastalarda daha az hacimlerde kök hücre elde edildiği için morbiditeyi azalttığı düşünülmektedir (5). Ji ve ark. (90) G-KİKH ile İ-KİKH kullanılan lösemili hastalarda yaptıkları çalışmada CD 34⁺ sayısı G-KİKH grubunda yüksek iken CD3⁺ hücre sayıları benzer bulunmuş ancak CD4⁺ ve CD8⁺ hücre sayıları G-KİKH grubunda İ-KİKH'e göre daha düşük saptanmıştır. Aynı çalışmada NE ve TE süreleri G-KİKH grubunda daha hızlı iken G-KİKH kullanılan hastalarda akut GvHH insidansı İ-KİKH oranla daha düşük saptamışlardır (80). Benzer şekilde Chiang ve ark. (81) yaptıkları çalışmada G-KİKH kullanılan hastalarda NE ve TE süreleri daha kısa iken akut GvHH insidansı, relaps olasılığı, yaşam süreleri ve olaysız yaşam süreleri benzer bulunmuştur. Kim ve ark. (82) yaptıkları bir başka çalışmada da G-KİKH kullanılanlarda NE ve TE süreleri daha kısa iken akut ve kronik GvHH gelişmesi G-KİKH kullanılanlarda daha az olduğu tespit edilmiştir. Yaşam süresi ve olaysız yaşam süreleri arasında fark bulunmamıştır. Bu bilgiler ışığında G-KİKH NE ve TE sürelerini kısaltan ciddi GvHH gelişimini sınırlayan iyi tolere edilen ve kullanışlı kök hücre kaynağı olduğu düşünülmektedir (8). G-KİKH kullanımının yaşam süresi ve olaysız yaşam süreleri üzerine pozitif bir etkisi gösterilememiştir (8, 80, 81). Literatürde G-KİKH ve İ-KİKH karşılaştırıldığı bazı yayınlar Tablo 2.3'de gösterilmiştir.

Bu bilgiler ışığında, çocukluk yaş grubunda katater takılmasının ve aferez yöntemi ile kök hücre toplanmanın zor bir işlem olması, G-PKKH kullanılanlarda kronik

GvHH oranlarının yüksek olması nedeniyle graft versus lösemi etkisi istenen lösemi hasta grubu dışında hastalarda G-Kİ kullanımının daha yararlı olabileceği düşünülmektedir (5).

2.3.2. Verici özelliklerinin hematopoetik kök hücre üzerine etkisi

Birçok araştırmacı verici demografik özelliklerinin ve laboratuvar değerlerinin CD34⁺ hücre sayısına etki edebileceğini göstermişlerdir (9-11). Çalışmalarda yaş, cinsiyet, ırk, vücut ağırlığı (VA), vücut yüzey alanı (VYA), verici monosit, trombosit ve lökosit değerlerinin CD34⁺ sayısını etkileyebileceğini belirtmişlerdir (9, 12). Wang ve ark. (12) yaptıkları çalışmada verici yaşı ile CD34⁺ hücre sayısı arasında negatif korelasyon saptarken erkek cinsiyet ve VYA pozitif korelasyon tespit etmiştir. Vasu ve ark (9) ise yaş ile negatif, VA pozitif, toplam kullanılan G-CSF dozu ile pozitif, G-CSF kullanımı öncesindeki trombosit ve monosit sayıları ile pozitif korelasyon saptamışlardır. Tek değişkenli regresyon analizinde en güçlü etken total kullanılan G-CSF dozu bulunurken VA, yaş, G-CSF öncesi trombosit ve monosit değerleri CD34⁺ hücre sayısını etkileyen diğer değişkenler olarak gösterilmiştir. Aynı çalışmada kadın cinsiyetin ve beyaz ırkın CD34⁺ hücre sayısı ile negatif korelasyonu tespit edilmiştir. Zhu ve ark. (83) yaptıkları başka bir çalışmada CD34⁺ hücre sayısını etkileyen en önemli faktörün yaş olduğunu belirtirken yaş ile CD34⁺ sayısı ile negatif korelasyon saptanmıştır. Aynı çalışmada cinsiyetin CD34⁺ hücre sayısı üzerine bir etkisi olmadığı belirtilmiştir.

2.3.3. Akut Graft Versus Host Hastalığı

Akut graft versus host hastalığı (aGvHH) HKHN'nin en önemli komplikasyonlarından biri olup HKHN'nin ilk 100. günü içinde görülen klasik tip ve 100. günden sonra görülen geç başlangıçlı tip olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Sağlıklı verici T hücrelerinin alıcı antijenlerini yabancı olarak algılaması sonucunda alıcı hücre ve dokularına karşı hücrel immün cevap meydana gelmesi patogenezdaki ana problemdir. Kök hücre nakli sonrası verici kaynaklı hematopoezin yeniden başlamasını takiben dolaşıma katılan verici kaynaklı T lenfositleri, alıcının hücrelerini ve yüzey antijenlerini yabancı olarak tanıyarak alıcı antijenlerine karşı duyarlı hale gelmektedir (84). Bu immünolojik süreç T hücre uyarımının afferent fazı

olarak adlandırılmaktadır. Bu sürecin ardından T hücreleri yabancı olarak nitelendirdikleri alıcı hücrelerine karşı efferent fazı başlatmaktadırlar. Efferent fazda T lenfositler, sitokinler, sitotoksik T hücreleri (sTH) ve doğal öldürücü (NK) hücreleri sürece katılmaktadır. Akut GvHH gelişimi için immünolojik açıdan sağlıklı verici T hücrelerinin olması, alıcı ve verici arasında doku antijen uygunsuzluğunun varlığı ve alıcının verici lenfositlerini etkisizleştirememesi olarak sıralanabilir.

2.3.3.1. Patogenezi

Akut GvHH beş basamak üzerinden incelenmektedir (Şekil 2.7) (85).

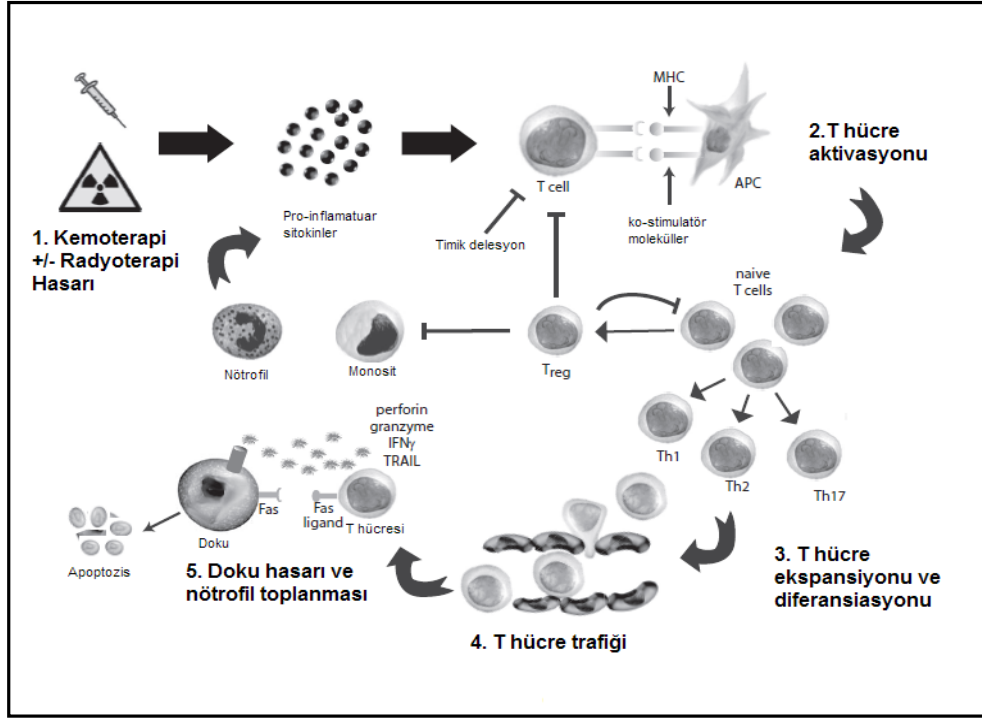
Birinci basamak: Hazırlık rejimleri olarak uygulanan kemoterapi/radyoterapi sonrasında dokularda meydana gelen hasar sonucunda TNF- α , IL-1 ve ekstraselüler matriks proteini olan biglikanın salınması antijen prezente edici hücreleri (APH) aktive ederek infüze edilen süspansiyon içindeki lenfositlerin bölgeye gelmesini kolaylaştırır. Gastrointestinal sistemde olan hasar sonucu lipopolisakkaridlerin (LPS) sistemik dolaşıma geçerek Toll-like reseptörler vasıtasıyla immün sistemi aktive etmektedir (85, 86).

İkinci basamak: Alıcı APH'leri alıcı antijenleri presente ederek verici T-hücrelerinin aktivasyonunu başlatmakta ve verici APH'leri ile de sürdürülmektedir (85, 87). Bu basamakta HLA proteinleri büyük önem taşımaktadır. HLA uyumsuzluğu ile aGvHH arasında sıkı bir ilişki mevcuttur. Ancak HLA tam uygun nakillerde aGvHH büyük bir sorun teşkil etmekte ve minor histokompatibilite antijenlerine bağlı gelişmektedir (88).

Üçüncü basamak: T hücrelerinin naif, efektör, hafıza, regülatuar, Th1/Ts1, Th2/Ts2 ve Th17'ye proliferasyonu ve diferensiasyonu gerçekleşmektedir. Th1/Ts1, Th2/Ts2 ve Th17 arasında denge sonucunda IL-4, IL-5, IL-6, IL-12, IL-13, IL-17, IL-21, IL-23, TNF- α , interferon- γ , transforme edici faktör- β salınımı gerçekleşmektedir (85).

Dördüncü basamak: Aktive olmuş T hücrelerinin sekonder lenfoid dokulardan hedef organlara göç etmesidir. Bu göç esnasında kemokin resptör (CCR), selektin-integrin, integrin-ligand etkileşimleri sonucu oluşmaktadır. T hücre tarfiğinde CCR5, CCR6 ve CCR-7 esas rolü oynamaktadır. Ayrıca L-selektin ve $\alpha 4\beta 7$ integrin etkileşimide lenfoid dokulardan hedef dokulara göçte önemli bir etkidir (85, 89)

Beşinci basamak: T hücreleri hedef organa ulaştıklarında direk sitotoksik etki ile hücre yıkımına sebep olmaktadır. Sitotoksik aktivite büyük oranda Fas ligand-Fas ve perforin-granzim yolları vasıtasıyla olmaktadır (90). TNF ilişkili apoptoz yolları GvHH'den daha ziyade GVT etkisi oluşturmaktadır. Interferon- γ , TNF- α , IL-2, IL-7, IL-10 gibi salınan sitokinler lökosit toplanmasına sebep olmakta ve doku hasarına katkıda bulunmaktadırlar (85).



Şekil 2.7. Graft versus host hastalığının patofizyolojisi (85)

APC: Antijen prezente eden hücreler, IFN- γ : interferon- γ , MHC: Major histokompatibilite kompleksi, TRAIL: tumor nekroz faktör ilişkili apoptozis, Treg: T regülör hücreler.

Akut GvHH'de tartışmalar T hücreler üzerine odaklansa da B hücrelerin de GvHH gelişimine katkısı bulunmaktadır. B hücreler antijen prezentasyonu, sitokin üretimi ve antikor oluşum basamaklarında rol oynamaktadır. Yapılan retrospektif bir analizde kök hücre ile birlikte infüze edilen B hücre sayısı ile GvHH arasında ilişki saptanmış ve B hücre sayısı arttıkça GvHH insidansının arttığı belirtilmiştir (85).

2.3.3.2. Risk faktörleri ve İnsidans

Akut GvHH için risk faktörleri iyi tanımlanmış olup en önemlisi HLA uyumsuzluğudur. Diğer risk faktörleri ileri yaş, akraba dışı vericiden nakil yapılması,

alıcı-verici arasında cinsiyet farkı olması, vericinin immunolojik olarak duyarlanması (hamilelik, transfüzyon öyküsü), hazırlık rejiminin yoğun olması, malign hastalık olması, periferik kan kaynaklı kök hücre seçimi, TNF- α , IL-10, interferon- γ polimorfizmi gibi genetik yatkınlık olması ve alıcı CMV seropozitifliği olarak sıralanmaktadır (84, 91).

Allojenik tam uyumlu kardeşten yapılan nakillerde aGvHH görülmesi %40 oranında bildirilmektedir. *International Bone Marrow Transplantation Registry* (IBMTR)'nin 630 allojenik tam uyumlu kardeşten yapılan nakil serisinde evre II-IV ve evre III-IV aGvHH görülme insidansı sırasıyla %28 ve %11 olarak bildirilmiştir (92). Akraba dışı nakiller ise HLA uyumsuzluğunun derecesi aGvHH insidansı etkilemektedir. Doksanlı yılların sonlarında HLA-A,B ve DRB1 alel uyumu ile yapılan nakillerde evre III-IV nakil insidansı %30-50 oranlarında bildirilmekteyken günümüzde HLA A,B,C,DRB1 ve DQB1 alellerinin taranması ile %8-11 oranında tespit edilmektedir (84, 93).

Kök hücre kaynağı olarak kord kanı seçilen nakillerde aGvHH görülme olasılığı daha azdır. HLA uyumsuz (4/6, 5/6) kord kanından yapılan nakillerde görülen aGvHH insidansı, HLA tam uyumlu kardeşten yapılan nakillere benzer sonuç vermektedir. Bu durumun tersine PKKH kullanımı sonrası aGvHH görülmesi kemik iliği kaynaklı kök hücre kullanımına göre daha yüksektir. Yapılan bir meta analizde PKKH'nin kemik iliği ile karşılaştırıldığında aGvHH insidansının 1,16 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (94).

2.3.3.3. Klinik bulgular

Akut GvHH'nin en sık görülen bulguları deride eritematöz döküntü, sarılıkla karakterize hepatit ve gastroenterit tablosudur. Bu bulgular tek başına görülebileceği gibi üçü birlikte aynı anda da görülebilmektedir. Yapılan çalışmalarda akut GvHH'nin %81'i deri bulguları, % 54'ü gastrointestinal bulgular ve % 50'si karaciğer bulguları ile ortaya çıkmaktadır (85).

Cilt bulguları: Akut GvHH'de sıklıkla ilk ortaya çıkan klinik bulgu kaşıntılı makülopapüler lezyonlardır. Erken evrede makülopapüler döküntü sıklıkla boyun, omuzlar, avuç içleri ve ayak tabanlarında görülmektedir. Hastalık ilerledikçe eritemli

lezyonlar göğüse, sırtta ve karın bölgesine yayılabilir. İleri evrelerde tüm vücuda yayılmakta ve Stevens-Johnson sendromu benzeri bullöz lezyonlar görülebilmektedir. Cilt bulgularının patolojik incelemesinde diskeratotik epidermal keratinositler, lenfosit ekzositozu, perivasküler lenfosit infiltrasyonu ve bazal kriptlerde apoptozis görülmektedir (85).

Karaciğer bulguları: Safra kanal hasarına bağlı olarak kolestaz görülmekte ve bunun sonucunda hiperbilirubinemi ortaya çıkmaktadır. Serum bilirubin düzeyi tutulumun ciddiyetini belirlemede önemlidir. Nakilin diğer komplikasyonlarından [Sinüzoidal obstrüksiyon sendromu (SOS), toksik hepatit, viral enfeksiyon, sepsis] ayırt edilmelidir. Ayırıcı tanı yapmak için karaciğer biyopsisi gereklidir ancak hastaların çoğunda trombositopeni ve koagülopati olması nedeniyle biyopsi yapılması her zaman mümkün olmamaktadır. Akut GvHH tanısı için karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma ile birlikte karaciğer dışı doku bölgelerinden yapılan biyopsi yararlı olmaktadır (95). Karaciğer biyopsisi yapılan olgularda safra kanallarında atipi ve dejenerasyon, epitelyal hücre kaybı, küçük safra yollarının lenfositik infiltrasyonu ve perikolonjit görülebilmektedir (85).

Gastrointestinal sistem bulguları: Kramp tarzında karın ağrısı, ishal, hematoçezya, bulantı-kusma ve ileus gibi semptomlar görülmektedir. Tutulumun ciddiyetini ishal volümü belirlemektedir. Akut GvHH görülen ishal sekretuar vasıftadır ve oral alım kesildikten sonra da devam edebilmektedir. Ayırıcı tanıda *Clostridium difficile* koliti, CMV enteriti, HSV veya candida özefegati, gastrit ve ülser akla getirilmelidir. İnce barsak biyopsisinde bazal kriptlerde apoptotik cisimcikler, kript abseleri, epitel yüzeyinde hücre kaybı ve düzleşme görülmektedir (85).

Diğer sistem bulguları: Timus fonksiyonlarında azalma, lenf bezlerinde küçülme, hipogamaglobulinemi, sitopeni (özellikle trombositopeni), fotofobi, hemorajik konjuktivit, lagofthalmi gibi göz bulguları, nefrit, nefrotik sendrom gibi renal tutulum gözlenebilmektedir (85).

2.3.3.4. Akut graft versus host hastalığı tanısı ve klinik derecelendirilmesi

Akut GvHH Glucksberg (96) tarafından oluşturulan ve IBMTR Keystone konferansından düzenlenen evreleme kriterleri kullanılmaktadır (97). Akut

GvHH'nin organ tutulum derecesine göre evrelendirilmesi Tablo 2.2'de, genel evrelendirilmesi Tablo 2.3'de gösterilmiştir.

Akut GvHH'de bazı plazma biyomarkerlarının yararlı olduğu gösterilmiştir. Cilt tutulumunda elafin (peptidaz inhibitör-3), GIS tutulumunda islet derive 3- α plazma düzeylerinde artış gösterilmiştir (85, 98). Bu iki plazma biyomarkerının IL-2 reseptör- α , TNF reseptör-1, hepatosit büyüme faktörü ve IL-8 ile kombinasyonu GvHH tedavi yanıtının ve mortalite olasılığının değerlendirilmesinde yararlı olduğu belirtilmiştir (85).

2.3.3.5. Graft versus host hastalığının önlenmesi

Immünespresif tedavi GvHH gelişimini önlemek için kullanılan bir tedavi seçeneğidir. Kısa süreli metotreksat kullanımı ve kalsinörin inhibitörlerinin (siklosporin ve takrolimus) kullanımı en çok tercih edilen immün supresif tedavi yöntemidir. Metotreksat dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek pürin sentezini engellemekte ve T hücreleri baskılamaktadır. Kalsinörin inhibitörleri ise T hücrelerinin IL-2 tarafından stimüle edilip çoğalmasını engellerken engraftman baskılanması, böbrek ve KC fonksiyon bozukluğu, hipertansiyon, trombotik mikroangiopati, posterior reversible ensefalopati sendromu gibi yan etkileri de bulunmaktadır. İnosine monofosfat dehidrogenaz inhibitörü olan mycophenolate mofetil ve rapamisin (mTOR) inhibitörü olan sirolimus immünespresyon amaçlı kullanılan diğer ilaçlardır. İmmünespresyon yanında GIS sterilizasyonu sağlamak amacıyla siprofloksasin kullanımı GvHH gelişimi azaltmaktadır (84, 85).

Tablo 2.2. Akut graft versus host hastalığının klinik evrelendirilmesi

Organ Tutulumu /Evre/Organ Tutulum Derecesi
<u>Deri Tutulumu</u> • Evre I: Makulopapüler döküntü vücudun <%25 • Evre II: Makulopapüler döküntü vücudun %25-50 • Evre III: Makulopapüler döküntü vücudun >%50 • Evre IV: Generalize eritrodermi, deskuamasyon ve bül formasyonu
<u>Karaciğer Tutulumu</u> • Evre I: Bilirubin 2-3 mg/dl • Evre II: Bilirubin 3,1-6 mg/dl • Evre III: Bilirubin 6,1-15 mg/dl • Evre IV: Bilirubin >15 mg/dl
<u>Gastrointestinal Sistem Tutulumu</u> • Evre I: 10-15 ml/kg/gaita/gün veya biyopsi ile üst GIS tutulumu+ • Evre II: 16-20 ml/kg/gaita/gün • Evre III: 21-25 ml/kg/gaita/gün • Evre IV: >25 ml/kg/gaita/gün

Tablo 2.3. Akut graft versus host hastalığının genel evrelendirilmesi

Genel Evreleme Sistemi
Genel Evre I • Cilt tutulumu Evre I,II
Genel Evre II • Cilt tutulumu evre III veya KC tutulumu evre I veya GIS tutulumu evre I
Genel Evre III • KC tutulumu evre II-III veya GIS tutulumu evre II-IV
Genel Evre IV • Cilt tutulumu evre IV veya KC tutulumu evre IV

Graft versus host hastalığının merkezinde T hücreleri olduğu için kök hücre verilmeden önce T hücre depleksyonu yapılması GvHH gelişimini azaltmaktadır. Ancak graft kaybı, hastalık tekrarlaması ve fırsatçı enfeksiyonların görülmesi gibi

riskler mevcuttur. Ayrıca HLA uyumsuz nakillerde in vivo anti-CD52 antikoru olan alemtuzumab ve ATG ile T hücre deplesyonu yapılması GvHH görülmesini önemli ölçüde azalttığı görülmüştür (84, 85, 95).

2.3.3.6. Akut graft versus host hastalığının tedavisi

Kortikosteroid (KS) tedavisi evre II-IV akut GvHH tedavisinde altın standart olup lenfotoksik etkisi ve proinflamatuvar sitokinleri baskılayarak etki etmektedir. Randomize klinik çalışmalarda 2 mg/kg/gün ideal başlangıç dozu olup klinik yanıt alındığında doz azaltılmalıdır (85). Kortikosteroid tedavisine beş gün içinde yanıt alınmadıysa ikinci tedavi modaliteleri düşünülmelidir. İkincil tedavi olarak ekstrakorporel fotoferez (ECP), pentostatin (adenozin deaminaz inhibitörü), sirolimus, mikofenolat mofetil, monoklonal antikolar (daclizumab; IL-2 reseptör antagonisti, etanercept; TNF- α antikoru) ve mezenkimal kök hücre kullanılabilmektedir (84). Evre I cilt tutulumu olanlarda topikal steroidlerin, ağır cilt tutulumu olan hastalarda ECP'nin, GIS tutulumu olanlarda oral beklometazonun faydalı olduğu gösterilmiştir (85).

2.3.3.7. Akut graft versus host hastalığının prognozu

Çocuklarda aGvHH'nin prognozu ile ilgili tanımlayıcı çalışmalar bulunmamaktadır. Ancak en önemli prognoz göstergesi KS tedavisine alınan yanıttır. Tam yanıt alınan hastaların 5 yıllık yaşam olasılığı %50 iken tam yanıt alınamayan hastalarda %30 olarak bildirilmektedir (99). Kortikosteroid ile tedavi edilmiş 443 hastanın incelendiği çalışmada hastaların %55'i KS tedavisine yanıt verirken GvHH derecesi ile KS tedavisine yanıt verilmesi arasında ters ilişki olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada akut GvHH tanısı olan hastaların %42'sinde kronik GvHH geliştiği bulunmuştur (100).

2.3.4. Kronik Graft Versus Host Hastalığı

Kronik graft versus host hastalığı (kGvHH) multisistem tutulumun eşlik ettiği alloimmün ve otoimmün bir tablo olup HKHN'nin geç dönemde morbidite ve mortaliteden sorumlu en önemli komplikasyonudur. Kronik GvHH'nin zaman

sınırlaması yoktur. Bazı durumlarda aGvHH ile net olarak ayırlamayan klinik özellikler gözlemlendiğinde kronik overlap sendrom olarak adlandırılmaktadır (101).

2.3.4.1. Patogenez

Kronik GvHH patogenezi halen net olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Kronik GvHH otolog ve singeneik nakillerden sonra gözlenmemesi alloreaktiviteyi önemli hale getirmektedir. Yaşla birlikte kGvHH'de artış gözlenmesi timus fonksiyon bozukluğunun patogeneze önemli olabileceğini düşündürmektedir. Akut GvHH kGvHH gelişmesi için en önemli risk faktörü olsa da biyolojik olarak birbirlerinden farklı iki durumdur (102). Akut GvHH olmadan *de novo* kGvHH vakaları bunu desteklemektedir (100). Birçok araştırmacı verici kaynaklı T hücre *alloreaktivite* ve *otoreaktivite* kaynaklı immun *disregüleasyonu* patogeneze sorumlu olduğunu düşünmektedir. Ayrıca bazı kronik GVHH hasta serilerinde sistemik lupus eritematozis, romatoid artrit, multiple sklerozis gibi otoimmün hastalıklarla benzer şekilde CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ T regülatuar hücre sayılarında düşüklük saptanmıştır (103-106). Aktive olmuş immun cevap timus ve periferik mekanizmalarının kontrolünden geçememektedir (102, 103). Bu bilgiler ışığında oluşan patolojik immun cevap inflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , IL-6, IFN- γ , TNF- α), fibroze edici sitokinlerin (transforme edici büyüme faktörü- β), sitolitik mekanizmaların, B hücre aktivasyonu sonucu antikor oluşumunun etkisi ile doku hasarı oluşturmaktadır (107).

2.3.4.2. Risk faktörleri ve insidans

Kronik GvHH gelişmesi açısından yüksek risk oluşturan durumlar;

- Akut GvHH öyküsü
- HLA uyumsuzluğu
- Kadın vericiden erkek alıcıya nakil yapılması
- Periferik kan kaynaklı kök hücre kullanılması
- Verici lenfosit infüzyonu

Kronik GvHH gelişmesi açısından düşük risk oluşturan durumlar;

- Yüksek CD34⁺ hücre sayısı
- Düşük CD34⁺ hücre sayısı (Kemik iliği kaynaklı nakil)
- Hızlı engraftman olması
- CMV seropozitifliği veya reaktivasyonu
- Kronik myeloid lösemi veya aplastik anemi grubuna nakil yapılması
- GvHH profilaksisinde kortikosteroid kullanılması

HLA uyumlu kardeşten yapılan PKKH kullanılan nakillerde kGvHH insidansı %40-80 oranında bildirilmektedir (108, 159). Yapılan bir meta analiz çalışmada PKKH kullanımının kemik iliği kaynaklı kök hücre kullanımı ile karşılaştırıldığında kGvHH olasılığını 1,66 kat arttırdığı gösterilmiştir (110). HLA uyumlu kardeş vericiden yapılan G-PKKH ve G-KİKH kök hücre kullanılan nakillerde kGvHH oranları sırasıyla %80 ve %22 olarak bildirilmiştir (111).

2.3.4.3. Klinik Bulgular

Kronik GvHH'de klinik bulgular HLA uyumlu kardeş nakillerinde ortalama 4,5 ay, akraba dışı uyumlu nakillerde de ortalama 4 ay içinde gelişmekte iken vakaların %5'i 1 yıl sonra ortaya çıkmaktadır. Kronik GvHH tanısı için kGvHH klinik özelliklerini taşıyan en az bir organ tutulumu gerekmektedir. Kronik GvHH'de deri tutulumu %65-80, ağız tutulumu %48-72, KC tutulumu %40-73, göz tutulumu %18-47, GIS tutulumu/kilo kaybı %16-26, akciğer %10-15, özefagus %6-8 ve eklemler %2-12 oranında gözlenmektedir (107).

Cilt tutulumu: Poikiloderma, liken planus benzeri erupsiyon, sklerotik değişiklikler, morphea benzeri süperfisyal sklerotik değişiklikler, liken sklerozis benzeri değişiklikler cilt tutulumu için diagnostiktir. Pigmentasyon kaybı ise cilt tutulumu için karakteristiktir. Ayrıca terleme bozukluğu, hipo-hiperpigmentasyon da görülebilmektedir (112).

Tırnaklar ve saç tutulumu: Tırnaklarda bombeleşme, kırılma, onikolizis, tırnak kaybı gibi distrofik değişiklikler tırnak tutulumu için karakteristiktir. Saçlarda kısmi veya tam alopesi karakteristik bulgular iken saçlarda erken beyazlama, incelme ve kırılma görülmektedir (112).

Ağız tutulumu: Liken planus benzeri değişiklikler, hiperkeratik plaklar (lökoplaki), ağız hareketlerinin sklerotik değişiklikler nedeniyle azalması kGvHH ağız tutulumunun diagnostik özellikleridir. Ayrıca ağızda kuruluk, mukoseller, mukozal atrofi ve ülserler görülebilmektedir (112).

Göz tutulumu: Gözde kuruluk, yanma, batma, sikatrisyel konjunktivit, keretokonjunktitis sicca ve punktat keratopati kGvHH görülen karakteristik özelliklerdir. Ayrıca fotofobi, periorbital hiperpigmentasyon ve blefarit görülebilmektedir. Yeni gelişen göz kuruluğu tespit etmek için schirmer testi kullanılabilir ve 5 dakikada ≤ 5 mm olması tanı koymada yararlıdır (112).

Gastrointesitinal sistem tutulumu: Endoskopi ile özefegial web, striktür ve konsantrik halka GIS tutulumu için diagnostik özellikler iken erozyon ve ülserlerde karakteristik özellikleridir. Ayrıca kilo kaybı, bulantı-kusma, ishal ve iştahsızlık görülebilmektedir (112).

Karaciğer tutulumu: Karaciğer tutulumu akut ve kronik GvHH için benzer özellikler taşımaktadır. Bilirubin yüksekliği ile seyreden kolestaz ve alkalen fosfataz yüksekliği görülebilmektedir (112).

Akciğer tutulumu: Bronşiolitis obliterans akciğer tutulumunun tek diagnostik tutulumudur. Öksürük, wheezing ve dispne klinik özellikleridir. Solunum fonksiyon testinde yeni gelişen obstruktif akciğer özellikleri sergilemektedir (112).

Kas-iskelet sistemi: Özellikle diz ve dirsekte görülen fasiyal tutulum, eklem sertliği ve kontraktürler, fasiit kas iskelet sistemi tutulumunun diagnostik özellikleridir. Ayrıca miyozit, kas krampları atiralji ve artrit görülebilmektedir (112).

Hematopoetik ve immun sistem: Sitopeni, hipogammaglobulinemi veya hipergammaglobulinemi, otoimmun hemolitik anemi ve idiyopatik trombositopenik

purpura görülebilmektedir. Trombosit sayısı $< 100.000/\mu\text{L}$ olması kötü prognoz ile ilişkilidir (112).

Diğer sistem tutulumları: Serozit (perikardiyal, plevral, asit), periferik nöropati, miyastenia gravis, nefrotik sendrom görülebilmektedir (112).

2.3.4.4. Kronik graft versus host hastalığının skorlaması ve derecelendirilmesi

Kronik GvHH hastalık derecelendirilmesinde eskiden kullanılan sınırlı ve ciddi hastalık sınıflandırmasının tedavi ilişkili mortaliteyi analiz etmede yetersiz olduğu anlaşıldıktan sonra *National Institutes of Health* (NIH) tarafından kGvHH skora ve klinik derecelendirme sistemi oluşturuldu (112). Kronik GvHH klinik bulguları diyagnostik özellikler, karakteristik özellikler, diğer özellikler ve ortak özellikler olmak üzere sınıflandırıldı. Diyagnostik özellikleri taşıyan klinik bulgular ileri inceleme gerektirmeden kGvHH olarak kabul edildi. Karakteristik özellikleri taşıyan özellikler aGvHH'de gözlenmeyen bulgular olsa da tanı için ileri inceleme yapılması gerektiği bildirildi. Diğer özellikleri taşıyan klinik bulguların kGvHH nadir gözlemlendiği ve tartışmalı bulgular olduğu bildirilirken tek başına kGvHH düşündürmeyeceği bildirildi (112).

Klinik özelliklerin organ tutulumunun derecesine göre skor sistemi oluşturuldu. Organ tutulumu yoksa 0, Hafif derecede tutulum 1, orta derecede tutulum 2, ciddi organ tutulumu 3 puan olarak skorlandı (112). Organ tutulum skoruna göre hastalık derecelendirilmesi Tablo 2.4'de gösterilmiştir.

Tablo 2.4. Kronik graft versus host hastalığı derecelendirilmesi

Organ/Bölge Sayısı	Hafif	Orta	Ağır
1 organ/bölge	1 puan	2 puan	3 puan
2 organ/bölge	1 puan	2 puan	3 puan
3 veya daha fazla organ/bölge	-	1 puan	3 puan
Akciğer tutulumu	-	1 puan	2 puan

2.3.4.5. Kronik graft versus host hastalığının tedavisi

Kronik GvHH'de tedavinin amacı immunolojik aktivasyona bağlı gelişen doku yıkımını önlemek, semptomları yatıştırmak, hastalık progresyonunu önlemek ve GvHH ilişkili mortaliteyi azaltmak olarak sıralanabilir (101). NIH sınıflandırmasına göre hafif hastalık olanlarda lokal tedaviler yeterli olurken orta ve ağır hastalık olanlarda sistemik immün supresif tedavi uygulanmalıdır (112). Primer sistemik tedavide KS'lerin siklosporin ile kombinasyonu kullanılmaktadır (107). Prednizolon 1 mg/kg/gün/tek doz olarak başlanırken siklosporin efektif kan seviyesi sağlayan dozda verilmelidir. İmmüsupresif tedaviden sonra hastalık stabil olarak kalıyorsa ya da cevap alınıyorsa prednizolon haftalık %25 doz azaltılarak 4 haftada hedef doz gün aşırı 1mg/kg olacak şekilde doz azaltılması yapılmalıdır. Hastalar 3 aylık periyodlar ile değerlendirilmeli ve tamamen düzelme saptandıysa steroid 2 hafta aralar ile doz azaltılarak kesilmelidir. Eğer hastanın kliniği aynı devam ediyorsa tedaviye doz azaltılmadan devam edilmelidir. Üç aylık periyodlarda hastalık progresyon gösteriyorsa kurtarıcı sekonder immüsupresif tedavilere geçilmelidir (101).

Kortikosteroid içeren primer tedaviye yanıt alınamıyorsa, primer tedavi altında progresyon geliyorsa ve primer tedavi ile stabil hastalık 4-12 hafta devam ediyor ve steroid doz azaltımı yapılamıyorsa sekonder immüsupresif tedavi başlanmalıdır. Sekonder immüsupresif tedavi kapsamında mikofenolat mofetil, takrolimus, ECP, sirolimus, pentostatin, rituximab ve yüksek doz kortikosteroid kullanılmaktadır (101).

2.3.4.6. Kronik graft versus host hastalığının nakil sonuçlarına etkisi

Relaps olmadan mortalite: Hematopoetik kök hücre naklinin 2. yılından sonra gelişen ölümlerin en büyük sebebi kGvHH'dir. Kronik GvHH'nin ciddiyeti attıkça NRM de artmaktadır. En önemli ölüm sebebi kGvHH bağlı organ yetmezlikleri sonucu oluşan gelişen enfeksiyonlardır (107). *De novo* kGvHH'de ise yaşam süreleri değişmemektedir. Relaps olmadan mortalite riskini arttıran etkenler çoklu organ tutulumu, tanı anında trombositopeni olması (trombosit sayısı < 100.000/ μ L), aGvHH sonrası progresif başlangıç sergileyen kGvHH, hiperbilirubinemi ve tanı anında yaygın cilt tutulumu olarak sıralanmaktadır (112).

Yaşam kalitesine etkisi: Fiziksel ve fonksiyonel işlevlerde kısıtlamaya sebep olduğu için kGvHH hastalarının yaşam kalitesi azalmaktadır. Kronik GvHH sonrası sosyal aktivitelerde azalma görülmekte ve yaşam süreleri kısalmaktadır (107).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma grubunun seçilmesi

Ankara Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kemik İliği Nakil Ünitesi'nde Nisan 2010-Ekim 2013 tarihleri arasında, vericiden kemik iliği toplanarak HKHN yapılan 64 hasta ve vericisi çalışmaya alındı. Çalışmaya dahil edilen vericiler arasında HKH toplanmadan önce G-CSF uygulanan ve uygulanmayanlar mevcuttu.

Bu çalışma Ankara Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu tarafından onaylandı (17.12.2013/2013-072).

Çalışmaya alınma ölçütleri:

1. Akraba içi nakil yapılmış olması
2. Tam HLA uyumu olması
3. Kök hücre kaynağı olarak kemik iliği kullanılması

Çalışmadan dışlanma ölçütleri

1. Otolog HKHN yapılmış olması
2. Tam HLA uyumu olmaması
3. Kök hücre kaynağı olarak periferik kan veya kord kanı kullanılması
4. Hastanın halen Kemik iliği nakil ünitesinde yatıyor olması

3.2. Çalışma gerekçesi ve amacı

Çocuklarda hematopoetik kök hücre naklinde G-CSF ile uyarılmış kemik iliği kök hücrelerinin nötrofil ve trombosit engraftmanı, akut ve kronik GvHH gelişimi, erken komplikasyonlar, enfeksiyon, sağkalım ve relaps üzerine olan etkisini belirlemek, hematopoetik kök hücre verici özelliklerini tanımlanmak, G-CSF'in kök hücre üzerine olan etkisini belirlemek, kullanılan iki ayrı G-CSF preparatının farklılıklarını belirlemek ve bu verileri G-CSF almamış donör vericileriyle karşılaştırmaktır.

3.3. Geriye dönük olarak araştırılan veriler

Hasta tıbbi kayıtları hastane merkezi bilgi sistemi (SARUS), çocuk KİTÜ arşiv dosyaları ve EBMT formları geriye dönük olarak incelenerek elde edildi. İncelenen

özellikler şunlardır:

A. Hasta Özellikleri

1. Hastanın yaşı, cinsiyeti, vücut ağırlığı
2. Nakil endikasyonu oluşturan hastalık
3. Nakil öncesi hastalığın durumu

B. Verici Özellikleri

1. Yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı ve vücut yüzey alanı
2. Verici ve alıcı doku uygunluğu
3. G-CSF kullanımı ve kullanıldı ise G-CSF preparatının jenerik adı ve dozu
4. G-CSF kullanılanlarda G-CSF öncesi ve sonrası, G-CSF kullanılmayanlarda nakil öncesi tam kan sayımı verileri
5. Kök hücre üzerinde işlem yapıp yapılmadığı
6. Toplanan kök hücre hacmi, total çekirdekli hücre sayısı ve CD34⁺ hücre sayısı
7. Kök hücre laboratuvarında üretilen BFU-E ve CFU-GM koloni sayıları

C. Nakil Özellikleri

1. Nakil tarihi
2. Hazırlık rejimleri
3. Graft versus host hastalığı profilaksisinde kullanılan ilaçlar

D. Nakil Sonuçları

1. İzlem süresi
2. Nötrofil engraftman zamanı
3. Trombosit engraftman zamanı
4. SOS görülüp görülmediği, varsa evresi
5. Akut GVHH görülüp görülmediği, varsa yeri ve evresi
6. Kronik GVHH görülüp görülmediği, varsa yeri ve evresi
7. HKHN erken komplikasyonları (engraftman sendromu)
8. Mukozit görülüp görülmediği, varsa evresi ["National Cancer Institute Common Toxicity Criteria" modifiye versiyon 4'e göre evrelendirilmiştir (113)]

9. Kimerizm sonuçları
10. Nakil ilişkili mortalite
11. Relaps ve otolog geri dönüş görülmesi ve zamanı
12. Genel sağkalım oranı
13. Olaysız sağkalım oranı

3.4. Vericinin saptanması ve seçimi

Hematopoetik kök hücre nakli yapılmasına karar verilen hastaların olası verici(ler)i saptamak amacıyla aile içi (anne, baba, kardeş) HLA doku tiplendirme çalışmaları yapıldı. Anne ve babadan HLA A, B, C, DR, DQ, DP araştırılması yapılırken, hasta ve kardeşlerinden HLA A, B, DR taramaları yapıldı. Verici olarak ilk önce kardeş uyumu arandı. HLA 6/6 uyumlu olan kardeşler verici adayı seçildi. Birden fazla uyumlu kardeş olduğunda ise yaş, vücut ağırlığı, cinsiyet, kan grubu, doğum öyküsü ve verici sağlığı göz önünde bulundurularak en uygun verici aday olarak seçildi. Eğer kardeşlerden uyumlu verici saptanmadı ise HLA tam uygun (10/10 ya da 9/10) anne veya baba verici adayı olarak seçildi. Vericilere genel sistemik muayene yapıldıktan sonra tam kan sayımı, periferik yayma, biyokimya, hemostaz parametreleri (protrombin zamanı, INR, aktive parsiyel tromboplastin zamanı), viral panel (HBs antijeni, antiHbs antikoru, anti-HCV, Anti-HIV, sitomegalovirus IgM/IgG, toxoplazma IgM/IgG, Rubella IgM/IgG, Herpes simpleks Tip 1-2 IgM/IgG), postero-anterior akciğer grafisi, elektrokardiyografi, ekokardiyografi testleri yapıldı. Değerlendirmeler sonucunda nakil açısından herhangi bir sakınca bulunmayan aday kök hücre vericisi olarak belirlendi. Kök hücre vericileri 0-12 yaş, 12-18 yaş ve >18 yaş olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

3.5. Hematopoetik kök hücre toplanmasından önce G-CSF uygulanması

Alıcı vücut ağırlığının verici vücut ağırlığından fazla ya da yakın olup toplanacak çekirdekli hücre sayısının yetersiz olacağı ($<2 \times 10^8$ /alıcı ağırlığı) düşünülen vericilere hematopoetik kök hücre toplanmasından önce G-CSF subkutan olarak, 3 gün, 10 mcgr/kg/dozda uygulandı. Granülosit koloni uyarıcı faktör preparatları kök hücre toplanması döneminde hastane eczanesi stoklarında yeterli olarak bulunan preparatlara göre seçildi [filgrastim (Leucostim®), lenograstim (Granocyte®)].

3.6. Hematopoetik kök hücre toplanması ve hazırlanması

Vericilerden ameliyathanede genel anestezi altında, steril koşullarda, kemik iliği aspirasyon iğneleri ve heparinli enjektörler kullanılarak, her iki posterior iliak krestten çoklu aspirasyon uygulanarak kemik iliği toplandı. Alınan kemik iliği pıhtılaşmaması için 1/7 oranında asit sitrat dekstroz (ACD) eklenmiş özel kemik iliği toplama torbasına aktarıldı (BioAccess, USA). Nakil öncesi alıcıya verilmesi gereken total çekirdekli hücre sayısı ve CD34⁺ hücre sayısı hesaplandı. Kemik iliği toplama işlemi sonlandırılmasına yakın toplanan örnekten hücre sayımı yapılarak hedef hücre sayısının toplanması sağlandı. Belirlenen hacimde kemik iliği toplandıktan sonra 850, 500 ve 200 µm'lik filtrelerden geçirilerek transfer torbasına aktarıldı. Toplanan ürün taşıma kabı içinde Kök Hücre Laboratuvarına getirildi. Laminar akım kabini içinde üründen çekirdekli hücre, CD34⁺ hücre sayımı, koloni oluşturuvcu ünite (CFU) kültürü ve standart kültürler için örnekler alındı.

Çekirdekli hücre sayımı için LH-780 model Beckman Coulter marka cihaz ile lazer okuma yöntemi kullanıldı. CD34 sayımı için Beckman Coulter Navios marka akım sitometri cihazı kullanıldı. Tüm monoklonal antikorlar (MA) Beckman Coulter firmasına aitti. Sayım için iki tüp hazırlandı. Birinci tüpe Floroscein isotiyosiyanat (FITC) ile işaretlenmiş CD45 MA ile 7-aminoaktinomisın floresan boyası eklenerek hücre canlılığı tespit edildi. Diğer tüpe ise Phycoerythrin (PE) ile işaretli CD34 ve FITC ile işaretli CD45 MA'ları eklendi. Oda sıcaklığında 15 dakika inkube edildikten sonra 2 cc eritrosit lizis solusyonu eklenerek 10 dakika daha inkube edildi. Elde edilen karışım kullanılarak akım sitometri cihazında standart yöntemle canlı CD34⁺ hücre sayısı tespit edildi.

Kök hücre torbasından CD34 sayımı için alınan örneğin bir kısmı ise BFU-E ve CFU-GM kolonilerinin oluşturulmasında kullanıldı. Bu işlem için kök hücre steril falkon tüpe alındıktan sonra üzerine amonyum klorit eklendi. Eritrositleri uzaklaştırmak amacıyla 10 dk vorteks cihazında çevrildi. Daha sonra 5 ml %2'lik Fetal Bovine Serum (FBS) (BIOCHROM, Germany) eklenip 1000 devirde 15–20 dakika, oda ısısında santrifüj edildi (Eppendorf Centrifuge–5702, Germany). Süpernatant kısım döküldükten sonra kalan kısma tekrar 5 ml %2 FBS eklendi ve 300 devirde 10 dk daha santrifüj edildi. Süpernatant kısım dökülüp % 2'lik FBS ile yeni

bir dilüsyon yapıldıktan sonra yarı katı besiyeri olan metil selülöz (MethoCult™ H4434 Classic, Canada) içerisine eklendi. Bu karışımdan 3 ml alınarak 2 adet petri kabına (Cell Star, Germany) ekildi. İnkübatörde (Eppendorf, new Brunswick Galaxy 170 R Series CO2 Incubators, Germany), steril koşullarda 37 derece ısıda, %5 CO2 basıncı altında 14 gün süre bekletildikten sonra koloni sayımları yapıldı.

Kök hücre ürününün hacmi ve ağırlığı kayıt edildikten sonra çekirdekli ve CD34 hücre sayıları hesaplandı. Eğer alıcı ve verici arasında major ABO kan grubu uyumsuzluğu mevcut ise eritrosit uzaklaştırması, minor ABO kan grubu uyumsuzluğu mevcut ise ve antikor titreleri yüksekse plazma uzaklaştırması yapıldı. Eritrosit uzaklaştırması için kök hücre ürün torbasına steril biyogüvenlik kabini içinde 1/6 oranında %6'lık Hidroksietil Starch (Varihes, Eczacıbaşı-Baxter) eklendi. Ürün torbası sabitlendikten sonra 30 dakika bekletildi. Altta yer alan eritrosit tabakası atık torbasına alınarak kalan kısım kullanıldı. Plazma uzaklaştırması için kemik iliği +4°C'da, 3000 devirde, 5 dakika santrifüj edildi (Heraeus Cryofuge 5500i, USA).

3.7. Hazırlık rejimleri

Hastalara tanılarına göre verilen hazırlık rejimleri Tablo 3.1'de gösterildi.

Tablo 3.1. Hasta tanılarına göre kullanılan hazırlık rejimleri

Hastalık Tipi	Hazırlık Rejimi
Akut Lenfoblastik Lösemi	Busulfan-Siklofosfamid
	Total vücut ışınlaması-Vepesid
	Total vücut ışınlaması-Siklofosfamid
Akut Miyeloblastik Lösemi	Busulfan-Siklofosfamid
	Busulfan-Siklofosfamid-Melfelan
Talasemi Major	Busulfan-Siklofosfamid
	Busulfan-Siklofosfamid-Thiotepa
	Pesaro protokol 26
Fanconi aplastik anemisi	Fludarabin-Siklofosfamid-Anti Timosit Globulin

3.8. Hastaların izlemi

Hastalar hazırlık rejiminin başlangıcından, taburcu oluncaya kadar “Kemik iliği Nakil Ünitesi”nde, laminar hava akımlı, HEPA-filtreli tek kişilik odalarda takip edildi. Tüm hastalara hazırlama rejimi öncesi çift lumenli Hickman kateter takıldı. Hastaların kan basıncı, ateş, nabız ve solunum sayısı gibi vital bulgular iki saatte bir, aldığı-çıkarıldığı sıvı miktarı, vücut ağırlığı ve karın çevresindeki değişiklikler ise 24 saatte bir kayıt edildi. Akut GVHH açısından ishal ve döküntü bulguları yakından izlendi. Hazırlık rejimi başlangıcından itibaren kan sayımı, biyokimya ve gerektiğinde diğer laboratuvar incelemeleri yapıldı. Hastalardan haftada 2 gün CMV PCR ve galaktomannan düzeyleri gönderildi. Siklosporin düzeyi yüksek performanslı sıvı kromatografi yöntemi ile (Api 3200TM LC/MS/MS system, Japan), genellikle haftada 1-2 kez çalışıldı. Nakil öncesi ve sonrasında rutin olarak ve gerekli görülen hallerde ekokardiyografi ve abdominal ultrasonografi yapıldı

Hastalara hazırlama rejimi ile birlikte ağız bakımı ve mukoza koruyucuları [omeprazol (1 mg/kg/gün)] başlandı. HKHN öncesi -6.gün mantar profilaksisi için flukonazol (5 mg/kg/gün, tek doz, iv) ve nakil sonrası +1. günden itibaren antiviral profilaksi olarak asiklovir (750mg/m²/gün, 3 dozda, iv) 21–28 gün süreyle verildi. Uygun olduğunda asiklovir ve flukonazol oral forma geçildi. Kanıtlanmış mantar veya viral enfeksiyon olmadıkça +100. güne kadar bu tedaviye devam edildi. Antibakteriyel profilaksi amacıyla -6.günden başlayarak siprofloksasin (20–30 mg/kg/gün, 2 dozda, iv) ve bağırsak sterilizasyonu amacı ile metronidazol (20–30 mg/kg/gün, 3 dozda, iv) myeloid engraftman sağlanana kadar verildi. Pneumocystis jiroveci profilaksisi amacı ile trimetoprim-sulfametaksazol (150 mg/m²/gün, 2 dozda, po) hazırlık rejimi ile birlikte başlanıp -1.gün kesildi, engraftman olduktan sonra tekrar başlanarak haftada 3 gün verildi. İmmüsupresif tedavi kesiminin ardında 2 ay daha devam edildikten sonra kesildi. CMV PCR düzeyinin 2 kez >400 kopya/μL ya da 1 kez >1000 kopya/μL olması pozitif kabul edilerek gansiklovir tedavisi (10 mg/kg/gün, 2 dozda, iv) başlandı.

Hastalara immunolojik destek açısından hazırlama rejiminden önce ve sonrasında +28. güne kadar haftalık olmak üzere, 0,4 g/kg dozunda intravenöz gama globulin (IVIG) veya pentaglobulin tedavisi verildi. Tüm hastalara haftalık 1–3 mg intravenöz

K vitamini ve haftada 3 gün oral 2,5–5 mg folik asit desteği verildi. Hastalara GvHH profilaksisi amacı ile -1.günden itibaren 3 mg/kg/gün dozunda intravenöz (iv), oral alım başladıktan sonra almakta olduğu iv dozun 2–2,5 katı olacak şekilde oral yoldan siklosporin tedavisi başlandı. İlaç düzeyinin 150- 250 ng/ml arasında olması hedeflendi. Siklosporin tedavisine ek olarak fanconi aplastik anemisi dışındaki hastalarda +1, +3, +6.günlerde iv kısa metotreksat profilaksisi ve proflaksinin 24 saat sonrasında da kalsiyum folinat intravenöz verildi.

Sinüzoidal obstruksiyon sendrom profilaksisi amacıyla hazırlama rejimi ile birlikte ursodeoksikolik asit 15-20 mg/kg/gün p.o 2-3 dozda, düşük molekül ağırlıklı heparin 0,8 mg/kg/gün sc tek dozda, glutamin 2,5-5 gr/gün p.o. 3 dozda verildi. Total parenteral nutrisyon (TPN) verilen hastalarda dipeptiven 0,4 g/kg/gün TPN içine konularak verildi. Sinüzoidal obstrüksiyon sendromu tedavisinde sıvı ve sodyum kısıtlaması ve/veya diüretik tedavinin yanısıra defibrotid (Prociclide®, Gentium, Coma, İtalya); 25–40 mg/kg/gün dozda, 6 saatte bir 2 saatlik infuzyon şeklinde verildi. Yüksek riskli hastalarda 25 mg/kg dozunda defibrotid ile proflaksi yapıldı.

İzlemde aksiler ateş; 2 kez $\geq 37,8^{\circ}\text{C}$ ya da 1 kez $>38^{\circ}\text{C}$ ve mutlak nötrofil sayısı $<500/\text{mm}^3$ olduğunda hasta febril nötropeni olarak kabul edildi. Kan ve kateter kültürleri alınarak empirik antibiyotik tedavisi başlandı. İzlemde ateş ve klinik duruma göre glikopeptit ve/veya mantar tedavisi empirik olarak eklendi. Mikroorganizma üretildi veya geçerli bir yöntemle saptandıysa uygun antibiyotik ve/veya antifungal tedavi verildi. Hastaların klinik durumlarına göre belli süreler sonrasında bu tedaviler kesildi. Enfeksiyonlar engraftman durumuna göre engraftman öncesi ve sonrası olarak sınıflandırıldı.

3.9. Tanımlamalar

Mutlak nötrofil sayısı (MNS) 3 gün üst üste $\geq 500/\mu\text{L}$ olduğunda ilk gün *Nötrofil engraftman günü* olarak kabul edildi.

Trombosit sayısının trombosit suspansiyonu verilmeksizin en az 1 hafta $\geq 20.000/\mu\text{L}$ olduğunda ilk gün *Trombosit engraftman günü* olarak kabul edildi.

Talasemi major hastaları *Pesaro* sınıflandırma sistemine göre 3 gruba ayrılarak hazırlama rejimleri planlandı (114). Buna göre hepatomegali (kosta sınırını >2 cm geçen), şelasyon tedavisine uyum ve karaciğer biyopsisinde portal fibrozis değerlendirilerek hastalar sınıf I, sınıf II ve sınıf III olarak derecelendirildi (Tablo 3.2)

Tablo 3.2. Pesaro sınıflandırma sistemi

Risk faktörü	Klas I	Klas II*	Klas III
Hepatomegali	3 risk	3 risk	3 risk
Düzensiz şelasyon	faktörünü de	faktöründen	faktöründe
Portal fibrozis	sahip olmayan hastalar	ikisine sahip hastalar	sahip hastalar

Akut graft versus host hastalığının tanı ve evrelemesi Glucksberg (96) tarafından oluşturulan ve IBMTR Keystone konferansında düzenlenen evreleme kriterleri kullanıldı (97). Akut GvHH'nin organ tutulum derecesine göre evrelendirilmesi Tablo 2.2'de, genel evrelendirilmesi Tablo 2.3'de gösterilmiştir.

Kronik graft versus host hastalığının tanısı ve evrelemesinde "National Institute of Health" tarafından oluşturulan organ skorlaması ve derecelendirilmesi kullanıldı (112). Kronik GvHH klinik bulguları diagnostik özellikler, karakteristik özellikler, diğer özellikler ve ortak özellikler olmak üzere sınıflandırıldı. Klinik özelliklerin organ tutulumunun derecesine göre skor sistemi kullanıldı. Organ tutulumu yoksa 0, hafif derecede tutulum 1, orta derecede tutulum 2, ciddi organ tutulumu 3 puan olarak skorlandı (112). Organ tutulum skoruna göre hastalık derecelendirilmesi Tablo 2.4'de gösterildi.

Hepatik SOS tanısı modifiye Seattle kriterleri esas alınarak tanımlandı. Hematopoetik kök hücre nakli sonrası ilk 21 gün içinde aşağıdaki kriterlerden en az ikisinin olması ile SOS tanısı konuldu.

1. Sarılık (total bilirubin ≥ 2 mg/dL)
2. Ağrılı hepatomegali ve/veya sağ hipokondriyak bölgede ağrı
3. Asit ve/veya bazal değere göre >2 ağırlık artışı

Sinüzoidal obstrüksiyon sendromunun bulguları kendiliğinden düzeldiyse *hafif*,

tedavi ile 100 gün içinde düzeldiyse *orta* ve tedaviye rağmen 100 gün içinde düzelmedi, çoklu organ yetmezliği ve/veya ölüme neden olduysa *ağır* olarak tanımlandı (115). Serum total bilirubin seviyesinin ve vücut ağırlığının normale dönmesi, asitin ve hepatomegalinin kaybolması SOS'in düzelmesi olarak kabul edildi.

Kimerizm, HKHN sonrası alıcıda allojenik hematopoetik hücrelerin bulunması olarak tanımlandı. Tam kimerizm alıcıdaki tüm hematopoetik hücrelerin verici kaynaklı oluşunu, karışık kimerizm ise verici ve alıcı hücrelerinin bir arada bulunması olarak değerlendirildi. Verici kimerizm %95-100 arasında ise tam kimerizm, %90-95 arasında ise evre 1 karışık kimerizm, %75-89,9 arasında ise evre 2 karışık kimerizm, <%75 ise evre 3 karışık kimerizm olarak değerlendirildi Kimerizm analizleri alıcı ve verici cinsiyetleri farklıysa floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemiyle, sex kromozomu analizi yapılarak veya alıcı ve verici cinsiyetleri aynıysa short tandem repeats (STR) yöntemi ile genellikle nakil sonrası 1. aydan başlayarak, 2,3,4,5,6,9,12,18, 24, ve 36. aylarda yapıldı.

Sağ kalım süresi; hastaya nakil yapıldığı tarihten itibaren yaşadığı veya hayattaysa son görüldüğü tarihe kadar geçen süre olarak belirlendi.

Olaysız sağ kalım süresi; nakil tarihinden itibaren graft reddi, hastalığın ilerlemesi, tekrarı veya herhangi bir nedenle ölüme kadar geçen süre olarak belirlendi.

Nakil ilişkili mortalite (NİM): Nakilden sonra ilk 100 gün içinde hastalık tekrarı dışındaki ölümler nakil ile ilişkili ölüm olarak tanımlandı.

3.10. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel hesaplamalar Statistical Package for the Social Sciences for Windows version 18.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA) paket programı ile yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler gözlem sayısı (n) ve % şeklinde gösterildi. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov Smirnov testi ile incelendi. Parametrik veriler ortalama $\pm$ standart deviasyon (SD), parametrik olmayan veriler ortanca-çeyrek değişkenler genişliği olarak gösterildi. Parametrik verilerin karşılaştırılması için Student's t-testi veya tek yönlü varyans analizi (ANOVA), parametrik olmayanlar için de Mann Whitney U-testi veya Kruskal Wallis testi kullanıldı. Kategorik

değişkenlerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. Kök hücre CD34 sayısı ile verici özelliklerinin korelasyonu Pearson korelasyon testiyle değerlendirildi. Kök hücre CD34 sayısını etkileyen verici özellikleri tek ve çok değişkenli doğrusal regresyon analizi ile değerlendirildi. Toplam sağ kalım ve olaysız sağ kalım süreleri Kaplan-Meier analiz yöntemi ile hesaplandı. İki grup arasındaki sağ kalım farkı ise log rank testi ile karşılaştırıldı. $p<0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hasta Özellikleri

Hastalarımızın HKHN sırasındaki ortalama yaşı 8,9 yıl (ÇDG:4,6–13,7, en düşük-en yüksek: 1-16,5), ortalama vücut ağırlığı 27 kg (ÇDG:14,8-38,7, en düşük-en yüksek: 9-60,9) olup, 31'i (%48,4) erkek, 33'ü (51,6) kızdı. Vericilerinin 29'unda G-CSF kullanılmıştı. Hastaların nakil öncesi özellikleri Tablo 4.1'de gösterildi.

Tablo 4.1. Hastaların nakil öncesi özellikleri

Tanılar		n	%	Toplam		Hasta Yaşı (yıl)*	Vücut Ağırlığı (kg)*
				n	%		
ALL	TR 1	6	9,4	13	20,3	8,9 (6,5-13,1)	29,2 (25,2-41,5)
	TR 2	7	10,9				
AML	TR 1	12	18,8	15	23,5	9,5 (6,2-14,3)	28 (15-44,5)
	TR 2	3	4,7				
Miyelodisplastik Sendrom		3	4,7	3	4,7	16,3 (12,3-16,5)	46 (45,6-56,5)
Kronik Myeloid Lösemi		1	1,6	1	1,6	11,9	39,6
Talasemi Major	Sınıf I	8	12,5	25	39,1	6 (2,1-12,9)	19 (11,5-28,4)
	Sınıf II	7	11				
	Sınıf III	10	15,6				
Fanconi Aplastik Anemi		7	10,9	7	10,9	9 (6,5-15,8)	19,5 (17,8-39)
TOPLAM		65	100	65	100	8,9 (4,6-13,7)	27 (14,8-38,7)

*ortalama (çeyrek değerler genişliği)

4.2. Vericilerin Özellikleri

Hemotopoetik kök hücre vericilerin ortalama yaşı 11,2 yıl (ÇDG:7,1–17,7, en düşük-en yüksek: 1,2-50), ortalama vücut ağırlığı 37,5 kg (ÇDG:19,4–57, 9,5-79), ortalama boyları 139 cm (ÇDG:113,5–160, en düşük-en yüksek: 75-180), ortalama vücut yüzey alanı (VYA) 18,5 m² (ÇDG:16,6-21,4, en düşük-en yüksek: 11,3-28,3) olup, 29'u (%45,3) erkek, 35'i (%54,7) kızdı. Vericilerin 36'sı (%56,3) 0–12 yaş arasında, 13'ü (%20,3) 12–18 yaş arasında ve 15'i (%23,4) >18 yaş idi. Vericilerin G-CSF kullanımına göre yaş, vücut ağırlığı, boy ve vücut yüzey alanı dağılımı Tablo 4.2'de gösterildi.

Vericilerin hepsi aile içi verici olup 60'ı (%93,8) kardeş, üçü (%4,7) anne, biri (%1,6) babaydı ve HLA grupları 61 (%95,3) vericide 10/10, üç vericide (%4,7) 9/10 uyumluydu. Vericiler ile alıcıların cinsiyet uyumuna bakıldığında; nakillerin 12'si (%18,8) kızdan kıza, sekizi (%12,5) erkekten erkeğe, 23'ü (35,9) kızdan erkeğe, 21'i

Tablo 4.2. Kök hücre vericilerinin demografik verilerinin G-CSF kullanımına göre dağılımı

<i>Verici Özellikleri*</i>	<i>G-CSF (+)</i>	<i>G-CSF (Ø)</i>	<i>Toplam</i>	<i>p</i>
Yaş (yıl)	10 (5,1-15,5)	11,5 (7,8-18,8)	11,2 (7,1-17,7)	0,621
Vücut ağırlığı (kg)	39 (17,6-54,3)	37 (23,8-59)	37,5 (19,4-57)	0,525
Boy (cm)	137 (107-160)	140 (123-160)	139 (113-160)	0,477
VYA (m ²)	18,5 (16,9-21,1)	18,5 (15,7-23,4)	18,5 (16,6-21,4)	0,723

*ortanca (çeyrek değerler genişliği)

(%32,8) erkekten kıza yapıldı. Nakillerin 15'inde (23,4) major ABO kan grubu uygunsuzluğu varken 9'unda (%14,1) minor uygunsuzluk mevcuttu. Ayrıca beş (%7,8) nakilde Rh kan grubu uygunsuzluğu tespit edildi. Bu uygunsuzluklar nedeniyle alıcılara verilen kök hücrelerin 20'sine (%31,3) eritrosit deplesyonu yapılırken ikisine (%3,1) plazma deplesyonu uygulandı. Minor uygunsuzluğu olan yedi (%10,9) nakilde antikor titreleri düşük olduğu için plazma deplesyonu yapılmadı (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Kök hücre vericilerin özellikleri

Verici Özellikleri	n	%
Cinsiyet		
Erkek	29	45,3
Kız	35	54,7
Aile içi Verici Özellikleri		
Kardeş	60	93,8
Anne	3	4,7
Baba	1	1,6
HLA Uyumu		
10/10	61	95,3
9/10	3	4,7
Cinsiyet Uyumu (Verici-Alıcı Cinsiyet)		
Kız - Kız	12	18,8
Erkek - Erkek	8	12,5
Kız - Erkek	23	35,9
Erkek - Kız	21	32,8
ABO Kan Grubu Uygunsuzluğu		
Major Uygunsuzluk	15	23,4
Minor Uygunsuzluk	9	14,1
Ürün İşlenmesi		
Eritrosit Uzaklaştırma	20	31,3
Plazma Uzaklaştırma	2	3,1

Granülosit koloni uyarıcı faktör kullanılan vericilerin 15'inde (%51,7) biyoeşdeğer filgrastim, 14'ünde (%48,3) lenograstim kullanıldı. Tedaviyle ilgili veriler Tablo 4.4'de verildi.

Tablo 4.4. Vericilere uygulanan biyobenzer filgrastim ve lenograstim karşılaştırılması

G-CSF	Filgrastim	Lenograstim	Total	p
Doz (mcgr/kg)*	10 (8,5 - 10)	10 (6,5 - 10)	10 (6,5 - 10)	0,112
Total Doz (mcgr)*	900 (510-1800)	1060 (580-1578)	900 (530-1578)	0,728
Süre (gün)*	3 (3 - 3)	3 (2 - 4)	3 (2 - 4)	1
G-CSF sonrası lökosit($\times 10^3/\mu\text{L}$)*	32,6 (28-41,2)	37,3 (25,7-46)	34 (26,3-45)	0,663

*ortanca (çeyrek değerler genişliği)

Alıcılardaki hastalık tanılarının vericilerin G-CSF kullanımına göre sınıflaması Tablo 4.5'de gösterildi.

Tablo 4.5. Alıcılardaki hastalık tanılarının vericilerin G-CSF kullanımına göre sınıflaması

G-CSF Kullanımı	Lösemi n (%)*	TM n (%)*	FAA n (%)*	Toplam n (%)*
G-CSF (Ø)	17 (26,6)	13 (20,3)	5 (7,8)	35 (54,7)
G-CSF (+) total	15 (23,4)	12 (18,8)	2 (3,1)	29 (45,3)
Filgrastim	8 (12,5)	6 (9,4)	1 (1,6)	15 (23,4)
Lenograstim	7 (10,9)	6 (9,4)	1 (1,6)	14 (21,9)
Toplam	32 (50)	25 (39,1)	7 (10,9)	64 (100)

*yüzde değerleri kendi grubu içindeki değerlerdir

4.3. Kök Hücre Özellikleri

Kök hücre vericilerinden ortalanca 675 ml (ÇDG:401-1022) ürün toplandı. Bu ürünün lökosit sayısı ortalanca $20 \times 10^3/\mu\text{L}$ (ÇDG:13–32,1), nötrofil sayısı ortalanca $14 \times 10^3/\mu\text{L}$ (ÇDG:7,9–26,1), lenfosit sayısı ortalanca $3,6 \times 10^3/\mu\text{L}$ (ÇDG:2,6–4,7), monosit sayısı $1,1 \times 10^3/\mu\text{L}$ (ÇDG:0,8–1,4), CD34 sayısı ortalanca $150/\mu\text{L}$ (ÇDG:89–200), çekirdekli hücre sayısı ortalanca $5,2 \times 10^8/\text{kg}$ (ÇDG: 3,9–6,9), CD34 sayısı $3,5 \times 10^6/\text{kg}$ (ÇDG: 2,4–3,5) idi.

Kök hücre ürününün özellikleri G-CSF alan ve almayan gruplar arasında karşılaştırıldığında, kök hücre volümü G-CSF alanlarda istatistiksel olarak anlamlı

olmasa da daha düşük saptandı ($p=0,243$). G-CSF alan grupta kök hücre lökosit, nötrofil, lenfosit, monosit, CD34/ μL ve çekirdekli hücre sayısı G-CSF almayan gruba oranla daha yüksek saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Tablo 4.6). CD34x10⁶/alıcı kg sayısı G-CSF alanlarda ortalama 2,6 (ÇDG:2,1-5,1) iken G-CSF almayan grupta 3,8 (2,6-6,1) idi ve G-CSF alan grupta daha düşük saptandı. Ancak G-CSF alan gruptaki alıcı vücut ağırlıkları (ortalama 31,5kg) G-CSF almayan gruptaki alıcıların vücut ağırlıklarından (ortalama 21,2 kg) daha yüksek olduğu için alıcı kg bölündüğünde böyle bir fark olduğu düşünüldü.

Tablo 4.6. Vericisi G-CSF alan ve almayan gruplar arasında kök hücre ürününün karşılaştırılması

Ürün Özellikleri*	G-CSF (+)	G-CSF (Ø)	p	Toplam
Volum (cc)	480 (380-982)	729 (411-1183)	0,243	657 (401-1022)
Volum (cc/kg)	19,5 (15,3-21,9)	20,9 (17,1-22,4)	0,438	19,9 (16,4-22,1)
Beyaz küre (x10 ³ / μL)	33 (27,9-40,9)	13,5 (10,5-16,4)	0,0001	20 (13-32,1)
Nötrofil (x10 ³ / μL)	26,3 (21,9-33,5)	8,2 (6,5-10)	0,0001	14 (7,9-26,1)
Lenfosit (x10 ³ / μL)	3,8 (3,3-4,8)	3, (2,5-4,7)	0,06	3,6 (2,6-4,7)
Monosit (x10 ³ / μL)	1,4 (1,2-1,9)	0,9 (0,7-1,1)	0,0001	1,1 (0,8-1,4)
CD34 (μL)	180 (96-261)	125 (78-185)	0,05	150 (89-200)
Çekirdekli hücre sayısı (x10 ⁸ /kg)	7,1 (5,2-8,6)	4,1 (3,5-5,2)	0,0001	5,2 (3,9-6,9)
Mononükleer hücre sayısı (x10 ⁸ /kg)	1,9 (0,92-1,56)	1,5 (1,03-1,08)	0,09	1,25 (0,96-1,7)

*ortalama (çeyrek değerler genişliği)

Granülosit koloni uyarıcı faktör kullanılan kök vericilerinin kök hücre volumu, kök hücre lökosit, nötrofil, monosit, CD34/ μL sayısı, çekirdekli hücre sayısı ve CD34 hücre sayısı karşılaştırıldığında filgrastim grubu ile lenograstim grubu arasında istatistiksel fark saptanmadı (Tablo 4.7). Biyo eşdeğer filgrastimin kök hücre toplamada en az lenograstim kadar etkin olduğu gözlemlendi.

Tablo 4.7. Kök hücre ürün özelliklerinin filgrastim ve lenograstim grupları arasında karşılaştırılması

Ürün Özellikleri*	Filgrastim	Lenograstim	p
Volum (cc)	437 (385 - 850)	643 (324 - 1018)	0,694
Volum (cc/kg)	20,88 (17,7 - 23)	17,3 (14 - 20,6)	0,055
Beyaz küre ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	30,3 (27,7 - 40,7)	34,3 (31,4 - 47,5)	0,144
Nötrofil ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	23,6 (20,7 - 32,6)	27,7 (25,5 - 36,6)	0,138
Lenfosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	3,7 (3,2 - 5,1)	3,9 (3,5 - 4,7)	0,793
Monosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1,4 (1,03 - 1,77)	1,5 (1,3 - 2,5)	0,247
CD34 (μL)	183 (104 - 272)	160 (93 - 259)	0,801
Çekirdekli hücre sayısı ($\times 10^8/\text{kg}$)	6,4 (5,1 - 8,7)	7,1 (5,1 - 8,6)	0,861
Mononükleer hücre sayısı ($\times 10^8/\text{kg}$)	1,07 (0,93 - 1,64)	1,15 (0,88 - 1,52)	0,727
CD34 ($\times 10^6/\text{kg}$)	3,14 (2,11 - 5,2)	2,59 (2,3 - 5,48)	0,930

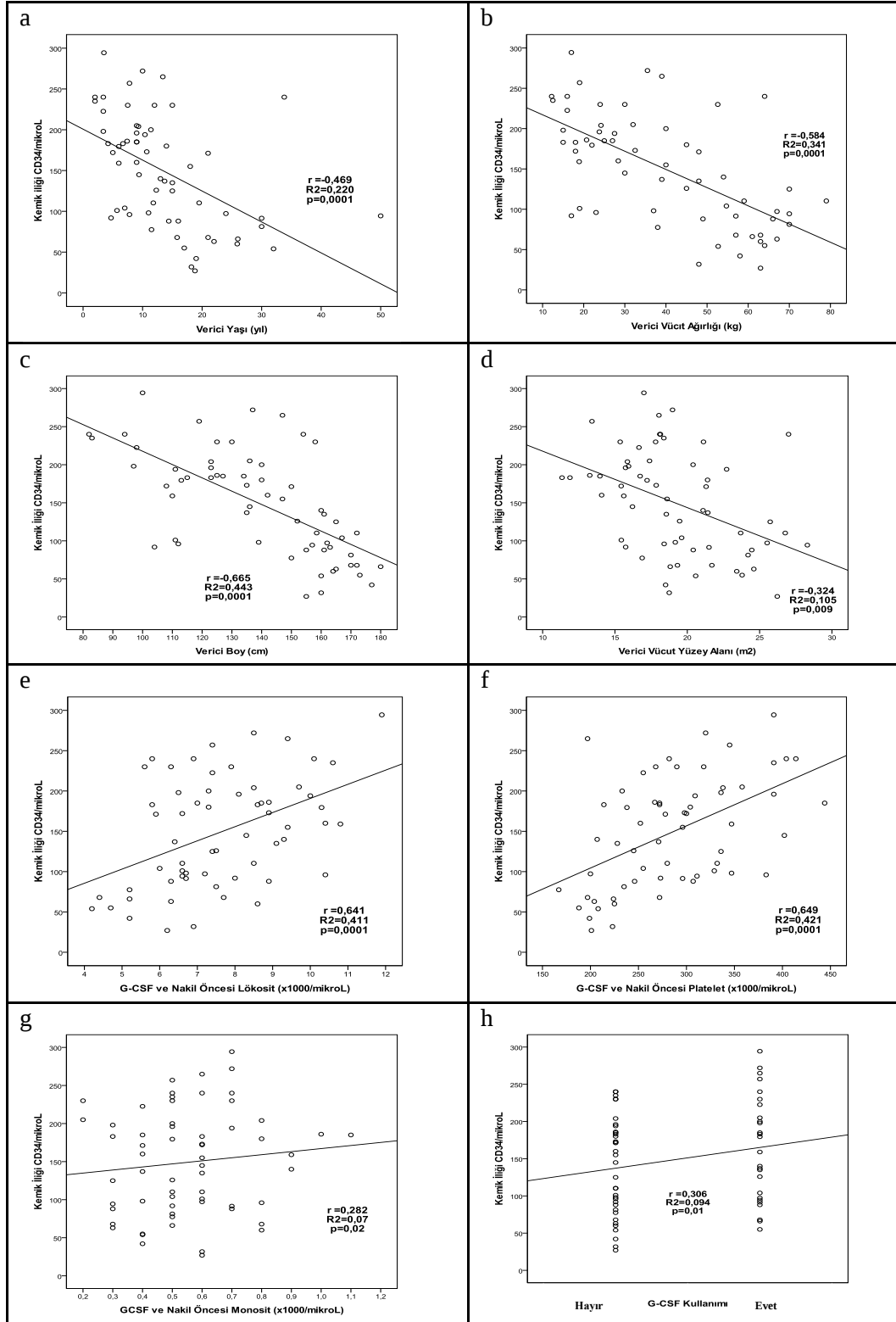
*ortanca (çeyrek değerler genişliği)

Tek değişkenli lineer regresyon analizinde kemik iliği kaynaklı kök hücre CD34/ μL sayısı ile korelasyon tespit edilen değişkenler Tablo 4.8 ve Şekil 4.1’de gösterildi. Verici cinsiyeti, G-CSF sonrası lökosit ve monosit sayıları ile CD34 sayısı arasında ise korelasyon saptanmadı.

Tablo 4.8. Kemik iliği CD34 sayısı ile korelasyon saptanan değişkenler

Kemik iliği CD34/ μL	r	R ²	p	Yorum
Verici boyu	-0,665	0,443	0,0001	Negatif güçlü korelasyon
Nakil öncesi platelet sayısı	0,649	0,421	0,0001	Pozitif güçlü korelasyon
Nakil öncesi lökosit sayısı	0,641	0,411	0,0001	Pozitif güçlü korelasyon
Verici vücut ağırlığı	-0,584	0,341	0,0001	Negatif güçlü korelasyon
Verici yaşı	-0,469	0,220	0,0001	Negatif orta korelasyon
Verici VYA	-0,324	0,105	0,009	Negatif orta korelasyon
G-CSF kullanımı	0,306	0,09	0,01	Pozitif orta korelasyon
Nakil öncesi monosit sayısı	0,282	0,08	0,02	Pozitif orta korelasyon

Tek değişkenli regresyon analizinde korelasyon saptanan değişkenler çok değişkenli lineer regresyon analizinde değerlendirildi. Kök hücre CD34/ μL sayısı ile verici boyu



Şekil 4.1. Kemik iliği kök hücre CD34 sayısı ile (a) verici yaşı, (b) verici vücut ağırlığı, (c) verici boyu, (d) verici VYA, (e) lökosit sayısı, (f) platelet sayısı, (g) monosit sayısı ve (h) G-CSF kullanımı arasında korelasyon grafikleri

G-CSF almayan vericilerde ve G-CSF alanlarda da G-CSF öncesindeki lökosit sayısı, G-CSF kullanımı, G-CSF almayan vericilerde ve G-CSF alanlarda da G-CSF öncesindeki platelet sayısı birlikte değerlendirildiğinde en güçlü korelasyon saptandı (**r=0,786, R²=0,617, p= 0,0001**). CD 34⁺ hücre sayısını etkileyen en önemli faktörler sırasıyla verici boyu, nakil öncesi lökosit sayısı, G-CSF kullanımı ve nakil öncesi platelet sayısı olarak tespit edildi. Bununla birlikte vericiler yaş gruplarına göre ayrıldığında, 18 yaş üzerinde VA, boy ve VYA ile CD34⁺ hücre sayısı arasında ilişki saptanmadı. Ancak, 18 yaş altında, özellikle de preadolesan dönemde (0-12 yaş grubu) bu ilişki kuvvetle mevcuttu. Ayrıca vericisi G-CSF alsın ya da almasın boyu 140 cm altında olanlarda CD34⁺ hücre sayısının, 140 cm üzerinde olanlardan anlamlı olarak fazla olduğu izlenirken (p=0.0001), vericisi G-CSF alsın ya da almasın platelet sayısı 280x10³/μL üzerinde olan vericilerin CD34⁺ hücre sayısının, altında olanlara göre daha yüksek olduğu görüldü (p=0,002)

Kemik iliği kök hücre ürününden ekilen BFU-E ve CFU-GM koloni sayıları karşılaştırıldığında; G-CSF grubunda BFU-E koloni sayısı ortalama 16,49x10⁴/kg (12,63-23,15), CFU-GM koloni sayısı ortalama 13,82x10⁴/kg (9,6-16,84) olup, G-CSF almayan grupta ise sırasıyla ortalama 11,12x10⁴/kg (6,78-15,95) ve 7,95x10⁴/kg (4,03-11,7) idi. G-CSF alan grupta BFU-E ve CFU-GM koloni sayıları almayan gruba göre daha yüksek saptadı (p=0,007, p=0,017). Granulosit koloni uyarıcı faktör alan hastalarda filgrastim grubu ile lenograstim grubunun koloni sayıları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (p=0,538) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Kök hücre kaynaklı BFU-E ve CFU-GM koloni sayılarının vericisinde G-CSF kullanımına göre karşılaştırılması

<i>G-CSF Kullanımı</i>	<i>BFU-E (x10⁴/kg)*</i>	<i>p</i>	<i>CFU-GM (x10⁴/kg)*</i>	<i>p</i>
Filgrastim	16,17 (13,79-22,3)	0,538	13,24 (8,08-15,46)	0,538
Lenograstim	18,6 (12,45-25,19)		14,04 (9,85-25,6)	
G-CSF (+)	16,49 (12,63-23,15)	0,007	13,82 (9,6-16,84)	0,017
G-CSF (Ø)	11,12 (6,78-15,95)		7,95 (4,03-11,77)	
Toplam	14,95 (9,79-19,88)		10,22 (7,12-15,37)	

*ortalama (çeyrek değerler genişliği)

Kök hücre toplanmasından önce ve toplamadan 24 saat sonra hemoglobinin değerlerinin karşılaştırılmasında; G-CSF alan grupta nakil öncesi Hgb $12,79 \pm 1,46$ gr/dl, nakil sonrası $10,78 \pm 1,41$ gr/dl, nakil öncesi ve sonrası fark $2,17 \pm 0,86$ gr/dl bulunurken, G-CSF almayan grupta bu değerler sırasıyla $12,61 \pm 1,82$ gr/dl, $9,93 \pm 1,76$ gr/dl, $2,68 \pm 0,96$ gr/dl olarak saptandı. (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Nakil öncesi ve sonrası Hgb değerlerinin karşılaştırılması

Hemoglobin (gr/dl)	G-CSF (+)	G-CSF (Ø)	p	Toplam
Nakil Öncesi *	$12,79 \pm 1,46$	$12,61 \pm 1,82$	0,677	$12,69 \pm 1,65$
Nakil Sonrası **	$10,78 \pm 1,41$	$9,93 \pm 1,76$	0,04	$10,32 \pm 1,66$
Nakil Öncesi ve Sonrası Fark*	$2,17 \pm 0,86$	$2,68 \pm 0,96$	0,03	$2,45 \pm 0,94$
Toplanan Ürün Volüm**	480 (380-982)	729 (411-1183)	0,243	657 (401-1022)

*ortalama±standart deviasyon, **ortanca (çeyrek değerler genişliği), #Ürün toplamadan 24 saat sonra

Kök hücre toplama esnasında ve sonrasında görülen komplikasyonlar karşılaştırıldığında G-CSF almayan grupta hipotansiyonun ve eritrosit süspansiyonu transfüzyonunun G-CSF alan gruba oranla daha yüksek olduğu gözlemlendi (Tablo 4.11). G-CSF alanlarda kök hücre volümü daha az olduğu için hipotansiyon ve eritrosit süspansiyonu transfüzyonunun daha az görüldüğü düşünüldü.

Tablo 4.11. Kök hücre toplama esnasında ve sonrasında görülen komplikasyonlar karşılaştırılması

<i>Kök Hücre Toplama Esnasında ve Sonrasında Görülen Komplikasyonlar</i>	<i>G-CSF (+) n (%)*</i>	<i>G-CSF (Ø) n (%)*</i>	<i>Toplam n (%)*</i>
Hipotansiyon	2 (6,9)	9 (25,7)	11 (17,2)
Eritrosit süspansiyon transfüzyonu	2 (6,9)	5 (14,3)	7 (10,9)
Bulantı - kusma	1 (3,4)	3 (8,6)	4 (6,3)
Stridor	2 (6,9)	0 (0)	2 (3,1)
Ürtiker	0 (0)	1 (2,8)	1 (1,6)
Toplam	7 (29,1)	18 (51,4)	25 (39)

*yüzde değerleri her grubun kendi içindeki yüzde değerleridir

4.4. Hazırlık rejimi ve Graft versus host hastalığı profilaksisi

Hematopoetik kök hücre nakli öncesinde hazırlık rejimi olarak hastaların 29'unda (%45,3) busulfan-siklofosfamid, 10'nunda Pesaro protokol 26, sekizinde (%12,5) total vücut ışınlaması-etoposid, yedisinde (%10,9) busulfan-siklofosfamid-anti timosit globulin, dördünde (%6,3) busulfan-siklofosfamid-melfalan, ikisinde (%3,1) total vücut ışınlaması-siklofosfamid, birinde (%1,6) siklofosfamid-melfalan ve birinde (%1,6) de busulfan-siklofosfamid-thiotepa kullanıldı (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. Hematopoetik kök hücre nakli öncesinde kullanılan hazırlık rejimleri

<i>Hazırlık Rejimi</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
Busulfan – Siklofosfamid	29	45,3
Pesaro Protokol 26	10	15,6
TVI – Etoposid	8	12,5
Busulfan – Siklofosfamid – Anti Timosit Globulin	7	10,9
Busulfan – Siklofosfamid – Melfalan	4	6,3
TVI – Siklofosfamid	2	3,1
Siklofosfamid – Melfalan	1	1,6
Busulfan – Siklofosfamid – Thiotepa	1	1,6
Toplam	64	100

GvHH profilaksisi için 49 hastada (%76,6) siklosporin A-metotreksat, 12 hastada (%18,8) siklosporin A, üç hastada (%4,7) siklosporin A - metil prednizolon kullanıldı. Granülosit koloni uyarıcı faktör kullanan ve kullanmayan grupta kullanılan GvHH profilaksisi açısından istatistiksel fark yoktu ($p=0,868$) (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. Graft versus host profilaksisi kapsamında kullanılan ilaçların dağılımı

GvHH Profilaksisi	n	%
Siklosporin A – Metotreksat	49	76,6
Siklosporin A	12	18,8
Siklosporin A - Metil Prednizolon	3	4,7
Toplam	64	100

4.5. Klinik Özellikler

4.5.1. Engrafman

Hastaların tümüne bakıldığında nötrofil engraftman süresi ortalanca 14 gün (ÇDG:12-17), trombosit engraftman süresi ortalanca 24 gün (ÇDG: 18-32), yatış süresi ortalanca 38 gün (ÇDG:30-47) olarak saptanırken; G-CSF alan grupta bu değerler sırasıyla 14 gün (ÇDG:12-17), 25 gün (ÇDG:18-31), 38 gün (ÇDG:30-45) ve G-CSF almayan grupta ise sırasıyla 15 gün (ÇDG:13-16), 24 gün (ÇDG:19-32) ve 38 gün (ÇDG:30-50) olarak saptandı. G-CSF alan ve almayan gruplar arasında nötrofil engraftmanı, trombosit engraftmanı ve yatış süreleri açısından fark saptanmadı (Tablo 4.14).

Tablo 4.14. G-CSF alan ve almayan grupların nötrofil engraftmanı, trombosit engraftmanı ve yatış sürelerinin karşılaştırılması

<i>Günler*</i>	<i>G-CSF (+)</i>	<i>G-CSF (Ø)</i>	<i>Toplam</i>	<i>p</i>
Nötrofil Engraftmanı	14 (12-17)	15 (13-16)	14 (13-17)	0,699
Trombosit Engraftmanı	25 (18-31)	24 (19-32)	24 (18-32)	0,994
Yatış Süresi	38 (30-45)	38 (30-50)	38 (30-47)	0,707

*ortalanca (çeyrek değerler genişliği)

Hasta grupları arasında engraftman günleri ve yatış süreleri karşılaştırıldığında, ortalanca nötrofil engraftman süresi lösemi grubunda 14 gün (ÇDG:12-16), FAA grubunda 12 gün (ÇDG:11-14), TM grubunda 16 gün (14-18) bulundu. Lösemi ve FAA grubunun engraftman günleri TM grubundan daha erken olduğu gözlemlendi (p:0,03) Trombosit engraftmanı ise lösemi, talasemi ve FAA gruplarında sırasıyla 21 gün (ÇDG:17-26), 19 gün (17-28), 30,5 gün (23-38) olup, benzer şekilde lösemi ve FAA grubunun trombosit engraftman süreleri TM grubuna göre daha kısa idi. Yatış süreleri açısından her üç grup arasında istatistiksel fark yoktu (Tablo 4.15).

Tablo 4.15. Tanı gruplarına göre hastaların nötrofil engraftmanı, trombosit engraftmanı ve yatış sürelerinin karşılaştırılması

<i>Günler*</i>	<i>Lösemi (a)</i>	<i>TM (b)</i>	<i>FAA (c)</i>	<i>p**</i>	<i>p***</i>	<i>p****</i>
Nötrofil Engraftmanı	14 (12-16)	16 (14-18)	12 (11-14)	0,03	0,09	0,003
Trombosit Engraftmanı	21 (17-26)	30,5 (23-38)	19 (17-28)	0,001	0,714	0,01
Yatış Süresi	37,5 (29-47)	43 (34-49,5)	35 (30-38)	0,152	0,869	0,226

*ortalanca (çeyrek değerler genişliği), ** (a&b), *** (a&c), **** (b&c)

Lösemi, talasemi major ve FAA hasta gruplarının kendi grupları içinde G-CSF alan ve almayanların nötrofil engraftmanı, trombosit engraftmanı ve yatış süreleri arasında istatistiksel olarak fark gözlenmedi (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. Tanı gruplarına göre G-CSF alan ve almayan hastaların nötrofil ve trombosit engraftman zamanları ve yatış sürelerinin karşılaştırılması

Günler*	Lösemi			Talasemi Major			FAA		
	G-CSF(+)	G-CSF(Ø)	p	G-CSF(+)	G-CSF(Ø)	p	G-CSF(+)	G-CSF(Ø)	p
Nötrofil Engraftmanı	13 (11-16)	15 (13-17)	0,110	16 (14-18)	13 (14-18)	0,721	13	12 (11-13)	0,960
Trombosit Engraftmanı	21 (17-26)	22 (18-29)	0,427	30 (24-37)	29 (23-45)	0,685	26,5	17 (16-24)	0,241
Yatış Süresi	35 (29-47)	40 (28-48)	0,777	43 (36-45)	36 (29-54)	0,663	32	38 (30-49)	0,434

*ortanca (çeyrek değerler genişliği)

4.5.2. Transfüzyon

Vericileri G-CSF alan ve almayan hastalar, nakil sonrası verilen eritrosit süspansiyonu (ES) ve trombosit süspansiyonu (TS) kullanımı ve total paranteral nutrisyon (TPN) kullanılan gün sayısı açısından karşılaştırıldığında; vericisi G-CSF alan grubun ortanca 3 gün (ÇDG:1-6) 10 ml/kg/gün ES, ortanca 9 gün (ÇDG:5-13) 10 cc/kg TS, ortanca 8 gün (ÇDG:5-9) TPN aldığı; bu değerlerin vericisi G-CSF almayan hastalarda sırasıyla 4 gün (ÇDG:3-6) 10 ml/kg/gün ES, 8 gün (ÇDG:6-13) 10 cc/kg TS ve 7 gün (ÇDG:4-13) TPN kullanıldığı kaydedildi. Vericisi G-CSF alan ve almayan gruplar arasında ES, TS ve TPN kullanılan gün sayısı arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı ($p>0,05$)

Tanı gruplarına göre hastaların eritrosit süspansiyonu kullandığı gün sayısı karşılaştırıldığında lösemi grubunun ortanca 2 gün (ÇDG:1-3), FAA grubunun ortanca 3 gün (ÇDG:3-4), TM grubunun ortanca 6 gün (5-9,5) ES kullandığı bulundu. Lösemi grubunda FAA ve TM gruplarına göre ES kullanımı daha az iken benzer şekilde FAA grubunda TM grubuna göre ES daha az kullanıldığı görüldü. Yine tanı gruplarına göre hastaların trombosit süspansiyonu kullandığı gün sayısı karşılaştırıldığında ise sırasıyla 6 gün (ÇDG:3-8), 8 gün (ÇDG:6-12), 12 gün (ÇDG:9-21) saptanırken lösemi ve FAA gruplarında TM grubuna göre TS kullanımının daha az olduğu tespit edildi. Lösemi ve FAA grupları arasında TS kullanımı açısından istatistiksel olarak fark görülmedi. Total parenteral nutrisyon

günleri arasında üç grup arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmedi (Tablo 4.17).

Tablo 4.17. Tanı gruplarına göre eritrosit süspansiyon, trombosit süspansiyon ve TPN günlerinin karşılaştırılması

<i>Günler*</i>	Lösemi (a)	TM (b)	FAA (c)	P (a&b)	P (a&c)	P (b&c)
Eritrosit Süsp (10cc/kg)	2 (1-3)	6 (5-9,5)	3 (3-4)	0,0001	0,036	0,002
Trombosit Süsp (10cc/kg)	6 (3-8)	12 (9-21)	8 (6-12)	0,0001	0,185	0,002
TPN	9 (6-11)	6 (4-11)	3 (2-6)	0,328	0,110	0,112

*ortanca (çeyrek değerler genişliği)

Engraftman sendromu açısından vericisi G-CSF alan ve G-CSF almayan hasta grupları karşılaştırıldığında G-CSF alan grupta üç hastada (%10,3), G-CSF almayan grupta ise iki hastada (%5,7) engraftman sendromu saptandı. Gruplar arasında engraftman sendromu görülmesi açısından fark tespit edilmedi (Tablo 4.18).

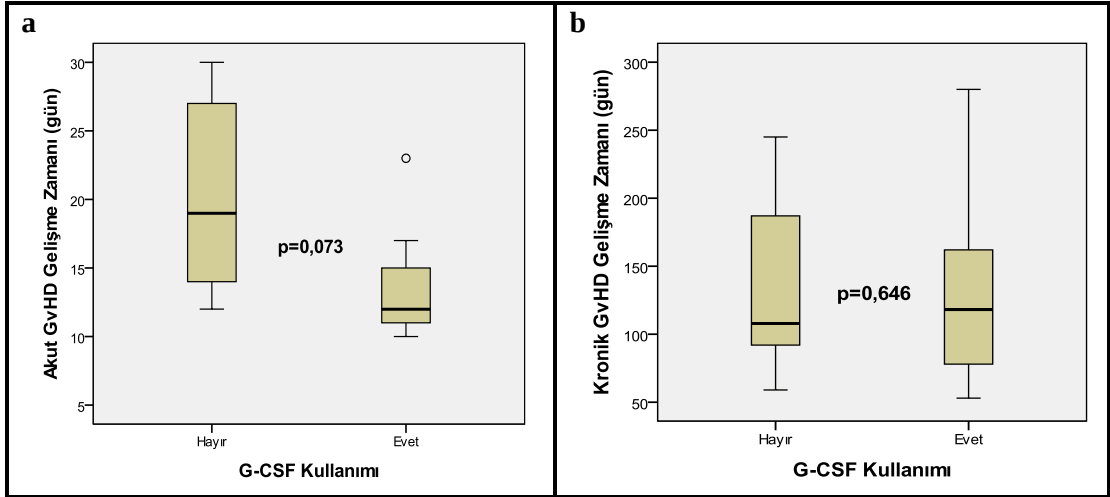
Tablo 4.18. Vericisi G-CSF alan ve almayan hastaların engraftman sendromu gelişmesi açısından karşılaştırılması

<i>Engraftman Sendromu</i>	G-CSF (+) n (%)*	G-CSF (Ø) n (%)*	Toplam n (%)*	p
Var	3 (10,3)	2 (5,7)	5 (7,8)	0,651
Yok	26 (92,2)	33 (94,3)	59 (92,2)	

*yüzde değerleri kendi grubu içindeki değerlerdir

4.5.3. Graft versus Host Hastalığı

Akut GvHH toplamda 12 hastada (%18,8) gözlemlendi. GvHH gelişme zamanı açısından bakıldığında G-CSF alan grupta ortalama 12 günde (11-17), G-CSF almayan grupta ortalama 19 günde (13-28) akut GvHH geliştiği görüldü. G-CSF alan grupta akut GvHH'nin G-CSF almayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha erken geliştiği tespit edildi ($p=0,073$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Akut ve Kronik GvHH gelişme zamanı

Vericisi G-CSF alan ve almayan hastalar akut GvHH gelişmesi açısından değerlendirildiğinde, G-CSF alan grupta yedi hastada (%24,1), G-CSF almayan grupta ise beş hastada (%14,3) akut GvHH (evre I-IV) gözlemlendi ve gruplar arasında istatistiksel fark tespit edilmedi ($p=0,352$) (Tablo 4.19).

Tablo 4.19. Vericisi G-CSF alan ve almayan hastaların akut GvHH gelişmesi açısından karşılaştırılması

Akut GvHH Evre I-IV	G-CSF (+) n (%)	G-CSF (Ø) n (%)	Toplam n (%)	<i>p</i>
Var	7 (24,1)	5 (14,3)	12 (18,8)	0,352
Yok	22 (75,9)	30 (85,7)	52 (81,2)	

*yüzde değerleri kendi grubu içindeki değerlerdir

Evre II-IV akut GvHH gelişmesi açısından değerlendirildiğinde vericisi G-CSF alan grubun üçünde (%10,3), G-CSF almayan grubun ise dördünde (%11,4) evre II-IV akut GvHH görüldü. Vericisi G-CSF alan ve almayan gruplar arasında bu açıdan fark bulunmadı ($p=0,809$).

Akut GvHH'ye bağlı organ tutulumlarına bakıldığında 9 hastada (%14) cilt tutulumu görülürken üç hastada (%4,7) gastrointestinal sistem tutulumu saptandı. Akut GvHH'ye bağlı organ tutulumları ve evrelere göre dağılımı Tablo 4.20'de gösterildi. Vericisi G-CSF alan ve almayan grup arasında organ tutulumu açısından fark gözlemlenmedi ($p=0,704$).

Kronik GvHH gelişmesi açısından tartışıldığında G-CSF alan grupta altı (%20,7) hastada, G-CSF almayan grupta da altı (%17,1) hastada kronik GvHH tespit edildi. Gruplar arasında kronik GvHH gelişmesi açısından fark gözlenmedi ($p=0,720$).

Tablo 4.20. Akut GvHH'de organ tutulumlarının evrelere göre dağılımı

Akut GvHH Organ Tutulumu	Evre I n (%)	Evre II n (%)	Evre III n (%)	Toplam
Cilt	3 (4,6)	2 (3,1)	4 (6,3)	9 (14)
GIS	1 (1,6)	2 (3,1)	-	3 (4,7)
Genel Evre	5 (7,8)	5 (7,8)	2 (3,1)	12 (18,7)

Kronik GvHH ciddi hastalık gelişmesi açısından bakıldığında vericisi G-CSF alan grupta iki (%6,9) hastada, G-CSF almayan grupta da üç (%8,6) hastada ciddi hastalık görüldü. Her iki grup arasında ciddi hastalık gelişmesi açısından fark gözlenmedi ($p=0,804$). Kronik GvHH gelişme zamanı vericisi G-CSF alan grupta ortalama 118 gün (ÇDG: 72-237), G-CSF almayan grupta ortalama 108 gün (ÇDG: 84-202) olarak tespit edilirken her iki grup arasında istatistiksel olarak fark gözlenmedi ($p=0,646$) (Şekil 4.3). Organ tutulumu göz önüne alındığında yedi (%10,9) hastada tek organ tutulumu, beş (%7,9) hastada üç veya daha fazla organ tutulumu tespit edildi. Organ tutulumlarının hastalık ciddiyetine göre dağılımları Tablo 4.21'de gösterildi.

Tablo 4.21. Kronik GvHH'de organ tutulumunun hastalığın ciddiyetine göre dağılımı

Kronik GvHH	Hafif Hastalık n (%)	Orta Hastalık n (%)	Ciddi Hastalık n (%)	Toplam n (%)
Tek organ tutulumu	7 (10,9)	-	-	7 (10,9)
Üç veya daha fazla organ tutulumu	-	1 (1,6)	4 (6,5)	5 (7,9)
Toplam	7 (10,9)	1 (1,6)	4 (6,5)	12 (18,8)

*yüzde değerleri kendi grubu içindeki değerlerdir

4.5.4. Mukozit

Hastalar mukozit gelişmesi açısından değerlendirildiğinde vericisi G-CSF alan grupta 25 (%86,2) hastada, G-CSF almayan grupta da 25 (%71,4) hastada mukozit geliştiği tespit edildi. Her iki grup arasında mukozit gelişmesi açısından fark

bulunmadı (p=0,226). Mukozit gelişen hastaların evrelere göre dağılımları Tablo 4.22'de gösterildi.

Tablo 4.22. Vericisi G-CSF alan ve almayan hastaların mukozit evreleri

Mukozit Evreleri	Evre I n (%)*	Evre II n (%)*	Evre III n (%)*	Evre IV n (%)*	Toplam n (%)*
G-CSF (+)	3 (4,7)	10 (15,6)	9 (14,1)	3 (4,7)	25 (39,1)
G-CSF (Ø)	6 (9,4)	8 (12,5)	7 (10,9)	4 (6,3)	25 (39,1)
Toplam	9 (14,1)	18 (28,1)	16 (25)	7 (10,9)	50 (78,2)

*yüzde değerleri kendi grubu içindeki değerlerdir

4.5.5. Sinüzoidal Obstruksiyon Sendromu

Hastalar SOS geliştirmesi açısından karşılaştırıldığında vericisi G-CSF alan grupta dört (%13,8), G-CSF almayan grupta yine dört (%11,4) olmak üzere toplamda sekiz (%12,5) hastada SOS görüldü. Her iki grup arasında SOS gelişmesi açısından fark gözlenmedi (p=0,776). Sinüzoidal obstruksiyon sendromu lösemi grubunda bir (%3,1) hastada, TM grubunda yedi (%28) hastada görülürken FAA grubunda SOS saptanmadı. Lösemi grubundaki bir hasta hafif derecede SOS iken TM grubundaki 7 hasta orta derecede SOS nedeniyle tedavi edildi. TM grubunda Pesaro sınıflamasına göre değerlendirildiğinde sınıf I ve sınıf II hastaların birer tanesinde (%4), , sınıf III olan hastaların ise beşinde (%20) SOS tespit edildi. Sınıf III olan dört (%16) hastada defibrotide profilaksisi uygulanmış olup, bu hastaların birinde (%25) SOS gelişirken üçünde (%75) SOS gelişmediği görüldü.

4.5.6. Ateş ve Enfeksiyon

Hastaların 55'inde (%85,9) KİT ünitesinde yattıkları süre içinde en az 1 kez ateş epizodu gözlenirken dokuzunda (%14,1) ateş gözlenmedi. Vericisi G-CSF alan grupta 23 (%79,3) hastada, G-CSF almayan grupta 32 (%91,4) hastada ateş saptandı. G-CSF alan grupta ateş G-CSF almayan gruba göre daha az sıklıkta olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı değildi (p= 0,165). Ateş gözlenen hastaların 31'inde (%56,4) bir ateşli epizot, 22'sinde (%40) iki ateşli epizot, ikisinde (%3,6) üç ateşli epizot tespit edildi (Tablo 4.23). Hastalar ateşli gün sayısı açısından değerlendirildiğinde G-CSF alan grupta ortalama 3 gün (min:1, max:11), G-CSF almayan grupta ortalama 2 gün (min:1, max:26) ateş devam ettiği görüldü (p=0,905).

Ayrıca vericisi G-CSF alanlarda enfeksiyonların %65,5'i, vericisi G-CSF almayanlarda %62,9'u engrafman öncesindeydi ve iki grup arasında fark yoktu (p=0,288).

Tablo 4.23 Vericisi G-CSF alan ve almayan gruplar arasında ateş epizotlarının dağılımı

<i>Ateş Epizot Sayısı</i>	<i>G-CSF (+)</i>			<i>G-CSF (Ø)</i>			<i>Toplam</i>	
	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>%**</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>%**</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
Ateş (Ø)	6	20,7	9,4	3	8,6	4,7	9	14,1
Ateş (+)	23	79,3	35,9	32	91,4	50	55	85,9
Bir Ateşli Epizot	15	51,7	23,4	16	45,7	25	31	48,4
İki Ateşli Epizot	7	24,1	10,9	15	42,9	23,4	22	34,4
Üç Ateşli Epizot	1	3,4	1,6	1	2,9	1,6	2	3,1

* yüzde değerleri kendi grubu içindeki değerlerdir, ** tüm hasta grubu içindeki yüzde değerlerdir

Ateş olan hastaların tespit edilen enfeksiyon kaynakları incelendiğinde 39 (%44,8) hastada nedeni bilinmeyen ateş, 16 (%18,4) hastada lokalize enfeksiyon, 12 (%13,8) hastada kateter kaynaklı kan yayım enfeksiyonu, dokuz (%10,3) hastada bakteriyemi, beş (%5,7) hastada fungal enfeksiyon, üç (%3,4) hastada sepsisemi ve üç (%3,4) hastada viral enfeksiyon olmak üzere toplamda 87 adet enfeksiyon nedeni tanımlandı (Tablo 4.24). Hastalara enfeksiyon nedeniyle ortalama 18 gün (ÇDG:14-24) antibiyotik kullanıldı.

Tablo 4.24. Enfeksiyon nedenlerinin dağılımları

Enfeksiyon Nedeni	<i>n</i>	<i>%</i>
Nedeni Bilinmeyen Ateş/Febril Nötropenik Ateş	39	44,8
Lokal Enfeksiyon	16	18,4
Mukozit	7	8
İdrar yolu enfeksiyonu	6	6,9
Yumuşak doku enfeksiyonu	2	2,3
Kateter giriş yeri enfeksiyonu	1	1,1
Kateter Kaynaklı Kan Yayım Enfeksiyonu	12	13,8
Bakteriyemi	9	10,3
Fungal Enfeksiyon	5	5,7
Sepsisemi	3	3,4
Viral Enfeksiyon	3	3,4
Toplam	87	100

4.5.7. İmmüsupresif Tedavi

Graft versus host hastalığı profilaksisi için siklosporin A başlanan hastalarda bu ilaç ortalca 84. günde (ÇDG:66-102) azaltmaya başlanırken ortalca 178. günde (ÇDG: 141-199) kesildi. Hasta gruplarına göre siklosporin azaltma ve kesme günleri Tablo 4.25'de gösterildi.

Tablo 4.25. İmmüsupresif tedavi azaltma ve kesme günlerinin hasta gruplarına göre dağılımı

İmmüsupresif Tedavi (CSA)*	Lösemi	TM	FAA	Toplam
Azaltma Zamanı (gün)	75 (63-92)	94 (67-103)	100 (63-120)	84 (66-102)
Kesme Zamanı (gün)	167 (123-182)	178 (164-205)	290 (187-474)	178 (141-199)

*ortalca (çeyrek değerler genişliği)

4.5.8. Kimerizm

Hastaların aylara ve tanı gruplarına göre verici kimerizm yüzdelerinin dağılımları Tablo 4.26'da gösterildi.

Tablo 4.26. Aylara ve tanı gruplarına göre verici kimerizm yüzdelerinin dağılımları

Kimerizm Oranları (%)*	Lösemi	TM	FAA	Toplam
1. ay (n: 64)	99 (96-100)	99,1 (98-100)	100 (98,6-100)	99,1 (97,4-100)
3. ay (n: 57)	99 (96-100)	98,6 (87,7-100)	100 (90,2-100)	99 (93,3-100)
6. ay (n: 53)	100 (98-100)	99,3 (87,8-100)	100 (95,1-100)	100 (95,5-100)
9. ay (n: 51)	100 (99,7-100)	98 (86,1-100)	100 (100-100)	100 (98-100)
12.ay (n: 42)	100 (100-100)	98,6 (77,5-100)	100 (100-100)	100 (98-100)
15. ay (n:37)	100 (99,5-100)	99,3 (74-100)	100 (100-100)	100 (94,7-100)
18.ay (n: 32)	100 (58-100)	91,5 (61,9-100)	100 (100-100)	100 (71,2-100)
24. ay (n: 27)	100 (100-100)	83,3 (43,3-100)	100 (100-100)	100 (85-100)

*ortalca (çeyrek değerler genişliği)

Talasemi major grubu verici kimerizm yüzdelerine göre incelendiğinde 1. ay sonunda hastaların 20'si (%80) tam verici kimerizmine, 5'i (%20) karışık kimerizme sahipti. Üçüncü ayda kimerizmi değerlendirilen 24 hastanın 16'sı (%66,7) tam verici kimerizmine, sekizi (%33,3) karışık kimerizme sahipti. Birinci yılda kimerizmi

değerlendirilen 16 hastanın ise 11'i (%68,8) tam verici kimerizmine, beşi (%31,2) karışık kimerizme sahipti (Tablo 4.27). Karışık kimerizme sahip hastaların transfüzyon ihtiyacı yoktu.

Tablo 4.27. Talasemi major hastalarının kimerizm yüzdelerinin değerlendirilmesi

Talasemi Major Kimerizm	Tam Kimerizm n (%)*	Karışık Kimerizm n (%)*	Karışık Kimerizm Evre I n (%)*	Karışık Kimerizm Evre II n (%)*	Karışık Kimerizm Evre III n (%)*
1. ay (n: 25)	20 (80)	5 (20)	2 (8)	3 (12)	-
3. ay (n: 24)	16 (66,7)	8 (33,3)	2 (8,3)	3 (12,5)	3 (12,5)
12. ay (n: 16)	11 (68,8)	5 (31,2)	-	2 (12,5)	3 (18,7)

*yüzde oranları her aydaki hasta sayısına göre olan yüzde oranlarıdır

4.5.9. Nakil sonrası hastalık durumu ve sağkalım

Nakil sonrası hastaların 48'i (%75) hastalıksız takip edilirken 16'sında (%25) ise relaps veya otolog geri dönüş tespit edildi. Vericisi G-CSF alan grupta 23 (%79,3) hasta hastalıksız iken altısında (%20,7) relaps veya otolog geri dönüş saptandı. Vericisi G-CSF almayan grupta ise bu oranlar sırasıyla 25 (%71,4) ve 10(%28,6) idi. Vericisi G-CSF alan grupta relaps veya otolog geri dönüş G-CSF almayan gruba göre daha az olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,469) (Tablo 4.28).

Tablo 4.28. Vericisi G-CSF alan ve almayan grupların nakil sonrası durumlarının karşılaştırılması

Nakil Sonrası Durum	G-CSF (+) n (%)*	G-CSF (Ø) n (%)*	Toplam n (%)*	P
Hastalıksız	23 (79,3)	25 (71,4)	48 (75)	0,469
Relaps / Otolog Geri Dönüş	6 (20,7)	10 (28,6)	16 (25)	

*yüzde değerleri kendi grubu içindeki değerlerdir

Vericisi G-CSF alan grupta relaps ya da otolog geri dönüş zamanı ortalama 9,8 ay (ÇDG: 3,8-18,4), G-CSF almayan grupta ise ortalama 5,6 ay (ÇDG: 3,8-9,8) olup G-CSF alan hastaların G-CSF almayan hastalara göre daha geç relaps yada otolog geri dönüş olduğu görüldü (Tablo 4.29).

Tablo 4. 29. Hastaların takip sürelerinin, relaps ya da otolog geri dönüş zamanının ve mortalite zamanının gruplar arasında karşılaştırılması

	Toplam Takip Süresi (ay)*	Relaps / Otolog Geri Dönüş Zamanı (ay)*	Mortalite Zamanı (ay)*
Lösemi	25,1 (11,3-37,2)	6,6 (5-13,4)	11 (6,1-18,3)
Talasemi Major	18,5 (11,8-30,4)	3,7 (2,8-9,8)	18,4
FAA	27,9 (15,8-36,9)	-	-
Toplam	21,7 (12,6-32,3)	5,8 (4,1-11,1)	11,5 (6,2-18,9)
G-CSF(+)	20,7 (13-30,9)	9,8 (3,8-18,4)	16 (6,7-19,5)
G-CSF (Ø)	25,1 (12,4-37,2)	5,6 (3,8-9,8)	10,9 (6,1-18,8)
Toplam	21,7 (12,6-32,3)	5,8 (4,1-11,1)	11,5 (6,2-18,9)

*ortanca (çeyrek değerler genişliği)

Nakil sonrası hastalık durumları tanı gruplarına göre incelendiğinde lösemi grubundan 20 hastanın (%62,5) remisyonda olduğu, 12 (%32,5) hastada ise relaps görüldüğü izlendi. Relaps görülen 12 hastanın beşi (%41,7) ALL, yedisi (%58,3) AML iken relaps olan beş ALL hastanın biri (%20) TR1'de, dördü (%80) TR2'de idi. Relaps olan yedi AML hastasının altısı (%85,7) TR1'de, biri (%14,3) TR2'de idi. ALL tanısı olup relaps olan hastaların relaps zamanı ortalama 5,1 ay (ÇDG:4,5-16,7), AML'de ise ortalama 7,2 ay (ÇDG:5,5-11) olup toplamda ise relaps zamanı ortalama 6,6 ay (ÇDG:5-13,4) olarak tespit edildi. Talasemi major tanılı hastaların 21'i (%84) hastaliksız olarak takip edilirken dördünde (%16) otolog geri dönüş saptandı. Otolog geri dönüş saptanan hastaların üçü (%75) Pesaro sınıf II talasemi, biri (%25) sınıf III idi. Talasemi hastaların ortalama 3,7 ayda (ÇDG: 2,8-9,8) otolog geri dönüş olduğu tespit edildi. Fanconi aplastik anemi tanısı ile nakil yapılan hiç bir hastada otolog geri dönüş görülmedi.

Relaps ya da otolog geri dönüş olan 16 hastanın beşine (%31,3) ünitemizde ikinci kez hematopoetik kök hücre nakli yapıldı. İkinci kez nakil yapılan hastaların üçünün (%60) tanısı AML, birinin (%20) ALL ve birinin (%20) de talasemi majordur. AML ve ALL hastalarının tümüne nakil öncesi kurtarıcı tedavi olarak IDA-FLAG tedavisi verildi. İkinci nakilde iki verici birinci nakil ile aynı kişi iken, 3 verici birinci nakilden farklı kişilerdi. İkinci nakil sonrası iki hasta remisyonda iken iki hasta tekrar relaps oldu. Talasemi major tanısı olan hasta ise sepsis nedeniyle kaybedildi.

Tablo 4.30. İkinci kez nakil yapılan hastaların özellikleri

<i>Hasta</i>	<i>Tanı</i>	<i>Relaps/Otolog Geri Dönüş Zamanı (ay)*</i>	<i>İkinci Nakil öncesi Kurtarıcı Tedavi</i>	<i>İkinci Nakil öncesi Hastalık Durumu</i>	<i>İkinci Nakil Zamanı (ay)*</i>	<i>Verici</i>	<i>Kök Hücre</i>	<i>Hazırlık Rejimi</i>	<i>Nakil Sonrası Durum</i>
M.Ş.	AML	11	IDA-FLAG	TR2	15,1	FD/Baba	Kİ	TBI-Cy	Remisyon
N.K.	AML	6	IDA-FLAG	TR3	12,3	FD/Baba	PKH	Cy-Mel	Relaps
S.U.	ALL	5,1	IDA-FLAG	TR3	9	AD/Kardeş	PKH	Bu-Cy	Remisyon
S.Ç.	AML	5,5	IDA-FLAG	TR2	9,4	FD/Kardeş	Kİ	Bu-Cy	Relaps
M.Ş.	TM	4,4	Ø	Ø	14,7	AD/Baba	Kİ	Flu-Bu-Cy	Eksitus

*ortanca (çeyrek değerler genişliği)

İkinci nakil yapılan hastaların özellikleri Tablo 4.30'da gösterildi. AML tanısı ile relaps olan bir hasta relaps sonrası IDA-FLAG tedavisi ardından donör lenfosit infüzyonu uygulanarak ikinci nakile gerek kalmadan remisyonda takip edildi.

Hastalar nakil sonrası sağ kalım durumlarına göre incelendiğinde vericisi G-CSF alan hastaların 24'ü (%82,8) hayatta iken beşi (%17,2) kaybedildi. Kaybedilen beş hastanın üçünde ölüm hastalık ilişkili iken, ikisinde nakille ilişkiliydi. Vericisi G-CSF almayan grupta ise 30 (%85,7) hasta hayatta iken beş (%17,3) hasta kaybedildi. Kaybedilen hastaların ölümlerinin tamamı hastalık ilişkiliydi. Vericisi G-CSF alan ve almayan gruplar arasında mortalite açısından fark görülmedi ($p=0,746$) (Tablo 4.31). Tanı gruplarına göre incelendiğinde; vericisi G-CSF alan grupta kaybedilen beş hastanın ikisinin tanısı ALL ikisinin AML, birinin de talasemi majordü. Vericisi G-CSF almayan grupta kaybedilen 5 hastanın ikisinin tanısı ALL, üçünün AML idi.

Tablo 4.31. Vericinin G-CSF alıp almamasına göre hastaların sağkalım özellikleri

<i>Sağkalım</i>	<i>G-CSF (+) n (%)*</i>	<i>G-CSF (Ø) n (%)*</i>	<i>Toplam n (%)*</i>	<i>p</i>
Hayatta	24 (82,8)	30 (85,7)	54 (84,4)	0,746
Mortalite	5 (17,2)	5 (17,3)	10 (15,6)	
Hastalık İlişkili Mortalite	3 (10,3)	5 (17,3)	8 (12,5)	0,635
Transplant İlişkili Mortalite	2 (6,9)	-	2 (3,1)	0,201

*yüzde değerleri kendi grubu içindeki değerlerdir

Vericisi G-CSF alan grupta ölüm zamanı ortalama 16 ay (ÇDG: 6,7-19,5) iken G-CSF almayan grupta ortalama 10,9 aydı (ÇDG: 6,1-18,8). Vericisi G-CSF almayan hastaların mortalite zamanının alan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha erken olduğu tespit edildi ($p=0,465$). Sağkalım özellikleri tanı gruplarına göre incelendiğinde lösemi grubunda hastaların 23'ü (%71,9) hayatta iken dokuzu (%28,1) kaybedildi. Kaybedilen hastaların sekizinde (%25) ölüm hastalık ile birinde ise (%3,1) nakil ile ilişkiliydi. Kaybedilen ALL tanılı dört hastanın biri TR1'de, üçü TR2'de iken, AML tanılı beş hastanın dördü TR1'de, biri TR2'de idi. Talasemi grubunda sadece bir (%4) eksitus olurken FAA tanısı ile nakil yapılan hiç bir hasta eksitus olmadı (Tablo 4.32).

Tablo 4.32. Hastaların sağkalım özelliklerinin tanı gruplarına göre dağılımı

<i>Sağkalım</i>	<i>Lösemi n (%)*</i>	<i>TM n (%)*</i>	<i>FAA n (%)*</i>	<i>Toplam n (%)*</i>
Hayatta	23 (71,9)	24 (96)	7 (100)	54 (84,4)
Mortalite	9 (28,1)	1 (4)	-	10 (15,6)
Hastalık İlişkili Mortalite	8 (25)	-	-	8 (12,5)
Transplant İlişkili Mortalite	1 (3,1)	1 (4)	-	2 (3,1)

*yüzde değerleri kendi grubu içindeki değerlerdir

Hastalar lösemi grubunda ortalama 25,1 ay (ÇDG:11,3-37,2), talasemi grubunda ortalama 18,5 ay (ÇDG: 11,8-30,4), FAA grubunda ortalama 27,9 ay (ÇDG:15,8-36,9) izlendi. Vericisi G-CSF alan hasta grubu ortalama 25,1 ay (ÇDG:12,4-37,2), G-CSF almayan hasta grubu ise ortalama 25,1 ay (ÇDG:12,4-37,2) olmak üzere toplamda hastalar ortalama 21,7 ay (ÇDG: 12,6-32,3) izlendi.

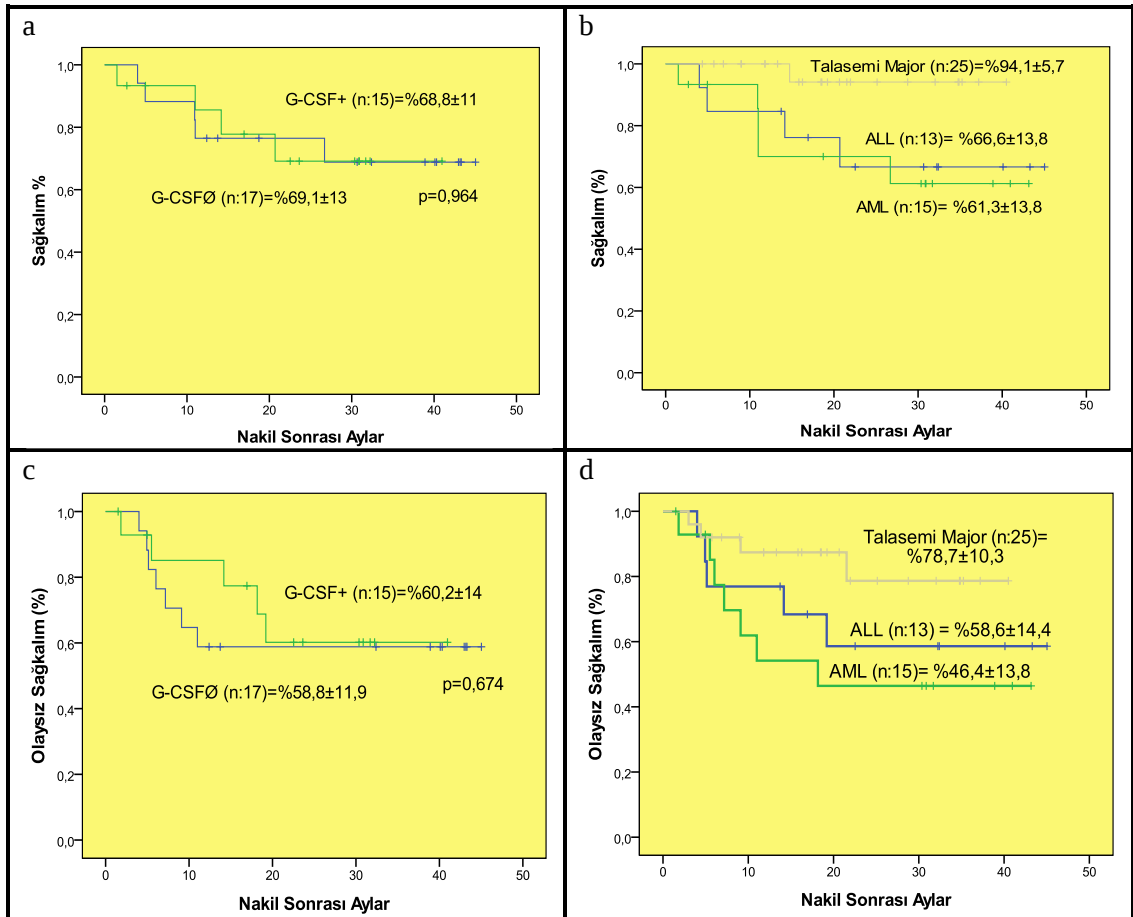
4.5.10. Yaşam Analizleri

Toplam 38,8 aylık sürede (%95 CI: 35,4-42,3) tüm hastaların genel sağkalım oranı (GSO) %80,5±5,7 olarak saptandı. Vericisi G-CSF alan grubun 35 aylık süredeki (%95 CI: 30,4-39,7) GSO %78,6±8,7 iken, G-CSF almayan grubun 39,5 aylık sürede (%95 CI: 35-43,9) GSO %82,5±7,4 olarak hesaplandı. Bu iki grup arasında GSO açısından fark saptanmadı (p= 0,762). Lösemi grubunun 34,6 aylık sürede (%95 CI: 28,9-40,4) GSO %68,1±9 bulundu. Vericisi G-CSF alan lösemi hastalarında 32,1 aylık sürede (%95 CI: 24,8-39,5) GSO %69,1±13 iken, G-CSF almayan hastalarda ise 34,8 aylık sürede (%95 CI: 27,2-42,5) GSO %68,8±11,8 olarak hesaplandı. Bu iki grup arasında da fark görülmedi (p= 0,964). ALL tanılı hastalarda 33,8 aylık sürede (%95 CI: 24,7-43) GSO %66,6±13,8, AML tanılı hastalarda ise 31,4 aylık sürede (%95 CI: 23-39,8) GSO %61,3±13,8 olarak bulundu. Talasemi grubunda 38,9 aylık sürede (%95 CI: 36,1-41,8) GSO %94,1±5,7 olarak bulundu. Yaşam analizi grafikleri Şekil 4.3'de gösterildi.

4.5.11. Olaysız Yaşam Analizleri

Tüm hastaların 35 aylık sürede (%95 CI: 30,8-39,2) olaysız sağkalım oranı (OSO) %71,5±6,2 olarak saptandı. Vericisi G-CSF alan grubun 33,6 aylık sürede (%95 CI: 28,5-38,8) OSO %75,4±8,9 iken G-CSF almayan grubun 33,8 aylık sürede (%95 CI:

28-39,6) OSO %69,2±8,3 olarak hesaplandı. Gruplar arasında fark saptanmadı (p= 0,503). Lösemi grubunun 30,2 aylık sürede (%95 CI: 23,7-36,7) OSO %58,7±9,2 olarak bulundu. Vericisi G-CSF alan lösemi hastalarında 29,5 aylık sürede (%95 CI: 21,4-37,6) OSO %60,2±14 iken G-CSF almayan hastalarda ise 29,2 aylık sürede (%95 CI: 20,2-38,2) OSO %58,8±11,9 olarak hesaplandı. Gruplar arasında fark saptanmadı (p= 0,674). Ancak bir yıllık OSO vericisi G-CSF alan grupta %85,1±9,7 iken G-CSF almayan grupta %58,8±11,9 idi. Her iki grubun 2 yıllık OSO birbirine benzer olsa da G-CSF alan hastaların daha geç relaps olduğu görüldü. ALL tanıılı hastalarda 30,5 aylık sürede (%95 CI: 20,6-40,4) OSO %58,6±14,4, AML tanıılı hastalarda ise 24,5 aylık sürede (%95 CI: 15-34,1) OSO %46,4±13,8 olarak bulundu. Talasemi grubunda 34,4 aylık sürede (%95 CI: 29-39,8) OSO %78,7±10,3 olarak bulundu.



Şekil 4.3. Hasta gruplarının sağkalım ve olaysız sağkalım oranları

5. TARTIŞMA

5.1. Nakil Özellikleri

Hematopoetik kök hücre nakli, HKH'lerin alıcıya verilmesi yoluyla hastalıklı veya hasarlı kemik iliğinin yeniden yapılandırılması işlemidir. Hematopoetik kök hücre naklinde amaç, genellikle Kİ kaynaklı bir hastalığı hazırlık rejimi kullanarak yok etmek ve sonrasında boşalan kemik iliği boşluğuna hastanın damar yolundan verilen kök hücrelerin yerleşmesini, devamlılığını ve uygun şekilde üretim yapmasını sağlamaktır (1). Hematopoetik kök hücre nakli hematolojik ve nonhematolojik malignitelerde, kemik iliği yetmezliklerinde, konjenital hematolojik hastalıklarda, immün yetmezliklerde kabul gören, etkin bir tedavi yöntemi olduğu gibi, bazı nörolojik ve kalıtsal metabolik hastalıklarda da iyileşme sağlayabilmektedir. Hematopoetik kök hücre nakli verici tiplerine göre allojenik, otolog ve singeneik nakil olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (64). Allojenik HKHN HLA tam uyumlu akraba içi, HLA tam uyumlu akraba dışı ve HLA uyumsuz vericilerden yapılabilmektedir. Allojenik HKHN'de en uygun verici anne-babası aynı olan ve doku tipi kardeşdir. Doku tipi uygun kardeş bulunamadığı durumlarda anne-baba ve yakın akrabalarda, yine bulunamazsa akraba dışı taramalar yapılmaktadır (3). Anne-babası aynı olan kardeşte 6/6 HLA uyumu tam olarak değerlendirilirken, kardeş dışı vericilerde HLA uyumu 10/10 olanlar tam, 9/10 ve altındakiler ise kısmi doku uyumu olarak nitelendirilir. Çalışmamızda 64 allojenik naklin 60'ının (%93,8) vericisi kardeş, üçünün (%4,7) anne, birinin ise babaydı. Nakillerin 61'i (%95,3) HLA tam uygun vericiden, 3'ü (%4,7) kısmi uyumlu (9/10) vericiden yapıldı. Bu nedenle hastalarımızda HLA uyumsuzluğu ile ilgili sorunlar izlenmedi.

5.2. Vericilerin Özellikleri

Verici demografik özelliklerinin ve laboratuvar değerlerinin Kİ kaynaklı kök hücre sayısına etki edebileceği birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (9-11). Çalışmalarda yaş, cinsiyet, ırk, vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi, verici lökosit, monosit ve trombosit değerlerinin CD34⁺ kök hücre sayısını etkilediği gösterilmiştir (9, 12). Wang ve ark. (12) periferik kök hücre vericilerinden yaptıkları çalışmada

verici yaşı arttıkça CD34⁺ hücre sayısının azaldığını ve erkeklerdeki CD34⁺ hücre sayısının kadınlara oranla daha fazla olduğunu göstermiştir. Aynı çalışmada VYA arttıkça CD34⁺ hücre sayısının da arttığı görülmüştür. Vasu ve ark. (9) periferik kök hücre vericilerinden yapmış oldukları bir başka çalışmada yine yaş arttıkça CD34⁺ hücre sayısının azaldığını, VA arttıkça da arttığını göstermiştir. Ayrıca, vericilerin kök hücre mobilizasyonu için aldıkları G-CSF dozu arttıkça CD34⁺ hücre sayısının da arttığı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, G-CSF uygulanmasından önceki trombosit ve monosit sayıları ile CD34⁺ hücre sayısı arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Regresyon analizinde CD34⁺ hücre sayısını etkileyen en önemli faktör olarak kullanılan total G-CSF dozu saptanırken, VA, yaş, G-CSF öncesi trombosit ve monosit değerlerinin de CD34⁺ hücre sayısını etkileyen diğer değişkenler olduğu gösterilmiştir. Zhu ve ark. (83) ise CD34⁺ hücre sayısını etkileyen en önemli faktörün yaş olduğunu, yaş ile CD34⁺ sayısı arasında negatif korelasyon olduğunu, ancak cinsiyetin herhangi bir etkisi olmadığını bildirmiştir. Veriler incelendiğinde çalışmamızda da diğer çalışmalara benzer şekilde verici yaşı arttıkça CD34⁺ hücre sayısının azaldığı görüldü ($r=-0,584$, $p=0,0001$). Diğer çalışmalardan farklı olarak VA ($r=-0,324$, $p=0,01$), boy ($r=-0,665$, $p=0,0001$) ve VYA ($r=-0,324$, $p=0,009$) azaldıkça CD34⁺ hücre sayısının arttığı saptandı. Ayrıca, diğer çalışmalardaki gibi cinsiyet farkının CD34⁺ hücre sayısını etkilemediği görüldü. Çalışmamızda vericiler yaş gruplarına göre ayrıldığında, 18 yaş üzerinde VA, boy, VYA ve cinsiyet ile CD34⁺ hücre sayısı arasında ilişki saptanmadı. Ancak, 18 yaş altında, özellikle de preadolesan dönemde (0-12 yaş grubu) bu ilişki kuvvetle mevcuttu. Sonuçlarımız, yaşı küçük de olsa çocuk vericilerden yeterli kök hücre toplanabileceği görüşünü destekler niteliktedir.

Çalışmamızda G-CSF kullanımı CD34⁺ hücre sayısını arttıran bir etken olarak tespit edildi ($r=0,306$, $p=0,01$). G-CSF almayan vericilerde ve G-CSF alanlarda da G-CSF öncesinde elde edilen periferik kan trombosit ($r=0,649$, $p=0,0001$), lökosit ($r=0,641$, $p=0,0001$) ve lenfosit ($r=0,300$, $p=0,001$), ve monosit sayıları ($r=0,282$, $p=0,02$) ile CD34⁺ hücre sayısı arasında pozitif korelasyon olduğu görüldü. Ancak lökositlerin bir alt grubu olan nötrofil sayılarıyla CD34⁺ hücre sayıları arasında ilişki bulunamadı ($r=0,214$, $p=0,09$). G-CSF verilen vericilerde ise G-CSF sonrası CD34⁺ hücre sayıları ile periferik kan trombosit ($r=0,751$, $p=0,0001$) ve lenfosit ($r=0,731$, $p=0,0001$)

sayıları pozitif koreleydi. Ancak lökosit ($r=0,270$, $p=0,165$), monosit ($r=0,071$, $p=0,696$) ve yine nötrofil ($r=0,072$, $p=0,712$) sayıları ile $CD34^+$ hücre sayıları arasında ilişki bulunamadı. Çalışmamızda $CD34^+$ hücre sayıları ile periferik kan platelet sayısı arasındaki ilişki en kuvvetli oldu. Yapılan bir çalışmada, G-CSF almamış nonobez diabetik farelerde kök hücre mobilizasyonu ve megakaryosit/platelet mobilizasyonu arasında, yazarların SDF-1 ile ilişkilendirdiği pozitif bir korelasyon izlenmiştir (116). Bir başka çalışmada ise G-CSF mobilizasyonu sonrası hem platelet sayılarının, hem de platelet ve monosit aktivasyon belirteçlerinin paralel artış gösterdiği görülmüştür (117). Çalışmamızdaki bulgular, bu çalışmaları destekler niteliktedir ve $CD34^+$ hücreler, plateletler ve monositlerin mobilizasyonunun benzer yollarla olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda vericisi G-CSF alsın ya da almasın platelet sayısı $280 \times 10^3/\mu L$ üzerinde olan vericilerin $CD34^+$ hücre sayısının, altında olan vericilere göre daha yüksek olduğu görüldü. Bulgularımız ve bahsedilen çalışmalardaki bulgular, G-CSF verilsin ya da verilmesin, vericiden toplanacak ürün $CD 34^+$ sayısını öngörmeye periferik kan platelet sayısının önemli bir dayanak olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda $CD34^+$ hücre sayısını etkileyen değişkenler çok değişkenli doğrusal regresyon analizinde değerlendirildiğinde en önemli faktörün vericinin boyu olduğu görüldü. Verici boyu 0-12 yaşında en anlamlı sonucu vermekle birlikte ($r=-0,541$, $p=0,001$), 12-18 yaş grubu ($r=-0,501$, $p=0,05$) ve 18 yaş üzeri grupta da ($r=-0,480$ $p=0,05$) ilişki mevcuttu. Ancak verici boyu ve platelet sayısının tekli ya da çoklu analizde etkin olduğunun izlenmesi, bu parametrelerin verici kök hücre miktarını en çok etkileyen faktörler olduğunu gösterdi. Çalışmamızda G-CSF alsın ya da almasın boyu 140 cm altında olanlarda $CD34^+$ hücre sayısının, 140 cm üzerinde olanlardan anlamlı olarak fazla olduğu izlendi ($p=0,0001$). Bu bilginin, özellikle alıcı/verici boyutları uygun olmayan nakillerde kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

5.3. Kök Hücre Özellikleri

Allojenik HKHN'de kök hücre kaynağı olarak periferik kan kaynaklı, kemik iliği kaynaklı ve kord kanı kaynaklı HKH'ler kullanılabilmektedir (2). Hematopoetik kök hücre miktarını arttırmak üzere PKKH'de ve KİKH'de G-CSF kullanılmaktadır. Çalışmamızda kök hücre kaynağı olarak kemik iliği alınan vericiler dahil edildi.

Bunların 29'una (%45,3) kök hücre sayısını artırmak için G-CSF uygulanırken, 35'ine (%54,7) uygulanmadı. Ülkemizde G-CSF preperatı olarak orjinal filgrastim (Neupogen®), biyobenzer filgrastim (Leucostim®) ve lenograstim (Granocyte®) kullanılmaktadır. Çalışmamızda G-CSF uygulanan hastaların 15'ine biyobenzer filgrastim (Leucostim®), 14'üne lenograstim (Granocyte®) kullanıldı. Kök hücre hacmi, lökosit sayısı, nötrofil sayısı, lenfosit sayısı, monosit sayısı ve CD34⁺ hücre sayısı gibi kök hücre ürün özellikleri biyobenzer filgrastim ve lenograstim arasında karşılaştırıldığında her ikisinin de etkin olduğu görüldü. Yapılan çalışmalarda sağlıklı periferik kök hücre vericilerinde, bizim çalışmamızda da olduğu üzere orjinal filgrastim ve lenograstimin kök hücre mobilizasyonunda benzer etkiye sahip olduğunu gösterilmiştir (118, 119). Bu çalışmaların aksine Höglund ve ark. (120) lenograstimin kök hücre mobilizasyonunda orjinal filgrastimden üstün olduğunu bildirmiştir. Türkiye'den yapılan bir başka çalışmada ise Şıvgın ve ark. (121) orjinal filgrastim (Neupogen®), biyobenzer filgrastim (Leucostim®) ve lenograstimi (Granocyte®) karşılaştırmış, üç preperatın da kök hücre mobilizasyonunda etkin olduğunu göstermiştir. Ayrıca bu çalışmada, kök hücre mobilizasyonunda biyobenzer filgrastimin orjinal filgrastim kadar etkin olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda biyobenzer filgrastim kök hücre mobilizasyonunda lenograstim kadar etkin olduğu gösterildi. Yukarıdaki çalışmalarda, kök hücre mobilizasyonunda G-CSF preperatlarının etkinliğinin karşılaştırılması, PKKH'lerde yapılmıştır. Çalışmamızda ise KİKH'lerdeki etkinlik araştırılmış ve benzer etkinlik gösterilmiştir.

Hematopoetik kök hücre naklinin yapıldığı ilk yıllarda kaynak olarak uyarılmamış kemik iliği kullanırken, ilerleyen yıllarda özellikle erişkin nakillerinde G-PKKH kullanımı artmıştır. Periferik kan kaynaklı HKH'nin yüksek çekirdekli hücre içermesi nedeniyle, alıcılarda NE, TE ve hastanede yatış sürelerinin daha kısa olduğu izlenmiş ve bu nedenlerle daha çok tercih edilmeye başlanmıştır. Ancak G-PKKH kullanımı sonrası kronik GvHH'nin daha sık görülmesi, kök hücre sayısının artırılması gereken hallerde G-KİKH kullanmasını ön plana getirmiştir. Granülosit koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış kemik iliği kaynaklı HKH'lerin çekirdekli hücre sayısı yüksek olup İ-KİKH ile karşılaştırıldığında engraftman zamanları daha erken olmaktadır. Ayrıca G-KİKH kullanılan nakillerde kronik GvHH'nin, G-PKKH kullanılan nakillere göre daha az görülmüştür. Ji ve ark. (80) G-KİKH ile İ-KİKH kullanılan erişkin

vericilerde yaptıkları çalışmada; çekirdekli hücre sayısı, CD 34⁺ hücre sayısı ve CFU-GM koloni sayısını G-KİKH grubunda daha yüksek, CD3⁺ T lenfosit sayısını ise benzer bulmuştur. Ancak, CD4⁺/CD8⁺ oranında CD8⁺ hücreler lehine artış saptanmıştır. Yazarlar, bu durumun GvHH için bir fark yaratmadığını belirtmiştir. Chiang ve ark. (81) ise çocuk hastaların vericilerinde yaptıkları çalışmada G-KİKH kullanılan vericilerde çekirdekli hücre sayısı ve CFU-GM koloni sayısı yüksek, CD34⁺ hücre sayısını ise benzer bulmuşlardır. Bu çalışmada verici yaş gruplarının ne olduğu hakkında kesin veri yoktur.

Çalışmamızda toplanan KİKH örneklerinde G-CSF alan grupta çekirdekli hücre sayısı, CD34⁺ hücre sayısı, lökosit, nötrofil ve monosit sayıları G-CSF almayan gruba oranla anlamlı olarak yüksek saptandı (Tablo 4.6). Granülosit koloni uyarıcı faktör alanlarda üründeki çekirdekli hücre sayısı ortalama $33 \times 10^3/\mu\text{L}$, CD34⁺ hücre sayısı ortalama $180/\mu\text{L}$ iken, G-CSF almayanlarda bu değerler sırasıyla ortalama $13.5 \times 10^3/\mu\text{L}$ ve ortalama $125/\mu\text{L}$ olarak daha düşük bulundu. Alıcı ağırlığına göre hesap yapılıncı CD34⁺ hücre sayısı G-CSF alanlarda ortalama $2,6 \times 10^6/\text{kg}$ iken, G-CSF almayan grupta ortalama $3,8 \times 10^6/\text{kg}$ idi ve G-CSF alan grupta daha düşük saptandı. Vericisine G-CSF verilen gruptaki alıcıların vücut ağırlıkları ortalama 31,5 kg ve G-CSF almayan gruptaki alıcıların vücut ağırlıkları ortalama 21,2 kg olduğundan böyle bir fark olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmamızda koloni sayıları değerlendirildiğinde G-CSF grubunda BFU-E koloni sayısı ortalama $16,49 \times 10^4/\text{kg}$, CFU-GM koloni sayısı ortalama $13,82 \times 10^4/\text{kg}$, G-CSF almayan grupta ise sırasıyla ortalama $11,12 \times 10^4/\text{kg}$ ve $7,95 \times 10^4/\text{kg}$ saptandı. Diğer çalışmalarda da olduğu gibi G-CSF alan grupta BFU-E ve CFU-GM koloni sayıları almayan gruba göre daha yüksek saptandı ($p=0,007$, $p=0,017$). Koloni sayıları birbirinden farklı olsa da NE ve TE süreleri farklı olmadığından hastalara yeterli sayıda hücrenin verilmiş olduğunu düşünmekteyiz. Granulosit koloni uyarıcı faktör alan vericilerde filgrastim grubu ile lenograstim grubunun koloni sayıları karşılaştırıldığında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,538$).

Granülosit koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış KİKH kullanılan vericilerde daha az hacimle hedef hücre sayısına ulaşılabilir. Bu durum vericide morbiditeyi azaltıcı bir etken olarak yansımaktadır. Çalışmamızda G-CSF alan grupta kök hücre toplama işlemi sonrasında Hb değeriindeki düşüş ortalama $2,17 \pm 0,86$ gr/dl iken, G-

CSF almayan grupta bu değer $2,68 \pm 0,96$ gr/dl olarak saptandı ($p= 0,04$). Ayrıca, G-CSF uygulanan hastaların ikisine eritrosit süspansiyonu verilmesi gerekirken (2/29; %6,9), G-CSF uygulanmayan hastaların beşine (5/35; %14,3) eritrosit süspansiyonu verilmişti. Ayrıca kök hücre toplama esnasında G-CSF alanların ikisinde (%6,9), G-CSF almayanların dokuzunda (%25,7) hipotansiyon görülürken G-CSF alanlarda işlem esnasında daha az hipotansiyon geliştiği tespit edildi. G-CSF alanlarda kemik ve baş ağrısı izlenmekle birlikte, ciddi bir yan etki izlenmedi. Sonuç olarak G-CSF uygulanan vericilerde yan etki/morbidite profili kabul edilebilir düzeydeydi. Sonuçlarımız, gerekli hallerde G-CSF uygulamasının güvenli olarak yapılabileceğini göstermektedir.

5.4. Klinik Özellikler

5.4.1. Engraftman

Granülosit koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış KİKH, yüksek sayıda çekirdekli ve CD34+ hücre içediği için NE ve TE zamanları daha kısa olurken hastanede yatış süreleri de daha az olmaktadır. Ji ve ark. (80) G-KİKH ile İ-KİKH'yi karşılaştırdıkları erişkin çalışmasında, NE zamanını sırasıyla ortalama 15 ve 21 gün, TE zamanı ise sırasıyla ortalama 17,5 ve 24 gün olarak saptamış ve G-KİKH grubunda engraftmanın daha hızlı olduğunu belirtmiştir. Couban ve ark.'nın (73) yine erişkinlerde yaptıkları ve nakil sonrası G-CSF kullanmadıkları bir çalışmasında ise G-KİKH grubunda NE zamanı ortalama 18 gün, TE zamanı ortalama 22 gün, İ-KİKH grubunda ise sırasıyla ortalama 22 ve 27 gün saptanmıştır. Bulabildiğimiz tek çocuk çalışmasında Chiang ve ark. (81) G-KİKH ile İ-KİKH'yi karşılaştırmış, NE zamanını sırasıyla ortalama 15,5 ve 16,5 gün, TE zamanı sırasıyla ortalama 21 ve 25 gün, yatış sürelerini ise ortalama 28 ve 40 gün olarak bildirmiştir. Her iki grup arasında NE ve TE zamanı arasında belirgin fark saptanmamış olup, bu durum nakil sonrasında alıcıya G-CSF verilmesine bağlanmıştır. Çalışmamızda da Chiang ve ark.'nın çalışmasında olduğu gibi, G-KİKH ve İ-KİKH kullanılan grupların NE zamanları sırasıyla ortalama 14 ve 15 gün ($p=0,699$), TE zamanları ortalama 25 ve 24 gün ($p=0,994$), yatış süreleri ortalama 38 ve 38 gün ($p:0,707$) olarak bulunmuştur. Biz bu durumun nakil sonrası her iki gruba da G-CSF verilmesine ve her iki grubun CD34+

hücre sayısının yeterli olmasına bağlı olduğunu düşündük. Ayrıca erişkin/çocuk nakillerinin farklı seyretmesi de sonuçlarımızda etkili olabilir.

5.4.2. Transfüzyon ve Enfeksiyon

Chiang ve ark. (81) yukarıda bahsedilen çalışmada G-KİKH ve İ-KİKH kullanılan gruplar arasında ES, TS ve TPN kullanımı açısından fark saptamamıştır. Ayrıca enfeksiyon epizotlarının sayısı arasında da fark bulunamamıştır. Çalışmamızda da her iki grup arasında ES, TS ve TPN kullanımı açısından fark tespit etmedik. Ancak ateşli epizotların istatistiksel olarak anlamlı olmasa da ($p=0.165$), G-KİKH grubunda (23/29; %79,3) İ-KİKH grubuna (32/35; %91,4) göre daha az olduğu saptandı. Her iki grupta da enfeksiyonlar daha çok engraftman öncesi izlenmişti. Vericisine G-CSF uygulanarak toplanan kök hücrelerin içeriğinde nötrofillerin daha fazla olduğu çalışmamızda gözlenmiştir. Bu fazlalığın ve her ne kadar çalışmamızda analiz etmemiş olsak da olası nötrofil prekürsörlerindeki artışın G-CSF alanlardaki enfeksiyon azlığının nedeni olabileceğini düşünmekteyiz.

5.4.3. Graft versus Host Hastalığı

Granülosit koloni uyarıcı faktör kullanımı T hücrelerin Th₂ yönünde polirizasyona sebep olurken Th₁ hücreler baskılanmaktadır. Bunun sonucunda vericisinde G-CSF kullanılan nakillerde akut GvHH ciddiyetinde azalma görüldüğü düşünülmektedir (80). Ji ve ark. (80) çalışmasında İ-KİKH kullanılan grupta %27,8, G-KİKH grubunda ise %6,3 evre II-IV aGvHH bildirirken, G-CSF kullananlarda aGvHH'nin daha az geliştiği saptanmıştır. Isola ve ark. (122) çalışmasında ise G-KİKH ve İ-KİKH grubunda benzer oranda evre II-IV aGvHH görüldüğü bildirilmiştir. Chiang ve ark. (81) çalışmasında ise G-KİKH grubunda %30, İ-KİKH grubunda %41,6 evre II-IV aGvHH görülmüştür. Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da G-KİKH grubunda (%24,1) İ-KİKH grubuna (%14,3) göre daha fazla evre I-IV aGvHH geliştiği görüldü ($p=0.352$). Ancak, evre II-IV aGvHH, G-KİKH grubunda %10,3, İ-KİKH grubunda %11,4 oranında benzer olarak literatürle uyumlu saptandı ($p=0,809$). Ayrıca, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da G-KİKH grubunda (ortanca 12. Gün) İ-KİKH grubuna göre (ortanca 19. Gün) daha önce aGvHH geliştiği

görüldü ($p=0,07$). Sonuçların farklılığı, daha büyük çalışma gruplarında analiz yapılması gereksinimini vurgular niteliktedir.

Kronik GvHH multisistem tutulumun eşlik ettiği alloimmun ve otoimmun bir tablo olup, HKHN'nin geç dönemde morbidite ve mortaliteden sorumlu en önemli komplikasyonudur. Akut GvHH öyküsü, HLA uyumsuzluğu, kadın vericiden erkeğe nakil yapılması, PKKH kullanılması ve verici lenfosit infüzyonu kGvHH için yüksek risk oluşturan durumlardır. Granülosit koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış PKKH kullanılan nakillerde kGvHH daha yüksek oranda görülmektedir. Buna karşın G-KİKH kullanılanlarda kGvHH görülme oranı İ-KİKH benzer ya da daha düşük saptanmıştır (77). Serody ve ark. (123) yaptıkları çalışmada G-KİKH kullanılanlarda %37, G-PKKH kullanırlarda da %68 oranında kGvHH bildirilmiştir. Morton ve ark. (111) ise G-KİKH grubunda %47, G-PPKH grubunda %90 oranında kGvHH bildirilmiştir. Bu çalışmadaki yüksek kGvHH oranı dikkat çekicidir. Ji ve ark. (80) yaptıkları çalışmada G-KİKH grubunda %24, İ-KİKH grubunda ise %33,3 oranında kGvHH bildirmiştir. Ostronoff ve ark. (124) ise G-KİKH kullanılanlarda %34,4 oranında kGvHH saptarken, İ-KİKH kullanılarak yapılan nakillerle benzer sonuçlar bildirmiştir. Çalışmamızda G-KİKH grubunda %20,7, İ-KİKH grubunda %17,1 oranında kGvHH görüldü ($p=0.720$). Kronik GvHH görülen 12 hastanın beşi orta ve ciddi hastalık olarak sınıflandırıldı. Ciddi hastalık görülmesi açısından da G-KİKH ile İ-KİKH arasında literatürle uyumlu olarak fark gözlenmedi. Kronik GvHH görülen hastaların sadece birinde (%8,3) aGvHH eşlik ederken, 11'inde (%91,7) böyle bir birliktelik olmadığı görüldü. Granülosit koloni uyarıcı faktör kullanılanlarda ortalama 118. günde kullanılmayanlarda da ortalama 108. günde kGvHH geliştiği görüldü. İki grup arasında fark saptanmadı ($p=0,646$).

5.4.4. Mukozit

Mukozit HKHN'nin önemli problemlerden biri olup myeloablatif hazırlık rejimi ya da GvHH profilaksisi olarak metotreksat kullanılanlarda sık görülen erken komplikasyonlardan biridir. Çalışmamızda G-KİKH grubunda %86,2, İ-KİKH grubunda %71,4 oranında mukozit gelişmiş olup iki grup arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p=0,433$). Bu durum, vericisi G-CSF kullanan ve kullanmayan gruplarda

NE süresinin benzer oluşuna ve hastaların nakil sonrası G-CSF kullanmasına bağlı olabilir.

5.4.5. Nakil sonrası hastalık durumu ve sağkalım

Granülosit koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış KİKH ve İ-KİKH kullanılan nakillerde kümülatif relaps oranları birbirine benzer saptanmıştır. Isola ve ark. (122) G-KİKH grubunda %14, İ-KİKH grubunda %13 kümülatif relaps oranları bildirirken iki grup arasında fark bulunmamıştır. Ji ve ark. (80) ise G-KİKH grubunda %16,6, İ-KİKH grubunda %11,1 oranında kümülatif relaps oranları bildirmiştir. Chiang ve ark. (81) da G-KİKH grubunda %40, İ-KİKH grubunda %33,3 oranında kümülatif relaps oranları yayınlamıştır. Çalışmamızda nakil sonrası hastaların 48'i (%75) hastalıksız takip edilirken 16'sında (%25) ise relaps veya otolog geri dönüş tespit edildi. Granülosit koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış KİKH grubunda altı (%20,7) hasta, İ-KİKH grubunda 10 (%28,6) hastada relaps ya da otolog geri dönüş saptandı ($p=0,469$) ve sonuçlar literatürle benzerdi. Ancak, relaps ya da otolog geri dönüş zamanı G-KİKH grubunda ortalama 9,8 ay, İ-KİKH grubunda ortalama 5,6 ay olup, G-KİKH grubunda hastaların İ-KİKH grubuna göre istatistiksel anlamlı olmasa da daha geç relaps ya da otolog geri dönüş olduğu görüldü ($p=0,143$). Birinci yıl sonunda bu fark ortadan kalkıyordu (Şekil 4.4). Eğer mevcutsa, G-CSF uyarısı ile alınmış KİKH'lerinin koruyucu etkisi sadece ilk yılı kapsamaktaydı.

Granülosit koloni uyarıcı faktör ile uyarılmış KİKH ve İ-KİKH kullanılan nakillerde ölüm oranları birbirine benzer saptanmıştır. Chiang ve ark. (81) G-KİKH grubunda %50, İ-KİKH grubunda %41,6 mortlite oranları bildirirken, hasta sayısı az olduğu için mortalite oranlarını yüksek bulduklarını ifade etmişlerdir. Ji ve ark. (80) G-KİKH grubunda %23,3, İ-KİKH grubunda %33,3 oranında mortalite bildirmiş, G-CSF alanlarda mortalite daha az olmasına rağmen istatistiksel fark bulamamıştır. Çalışmamızda da G-KİKH grubunda beş (%17,2) hasta kaybedildi. Kayıpların üçü malignite ile ilişkili iken, ikisi nakil ile ilişkiliydi. Uyarılmamış KİKH grubunda da beş hasta (%17,3) hasta kaybedildi. Bunların tamamı hastalık ilişkiliydi. Çalışmamızda diğer çalışmalarla benzer şekilde, iki grup arasında mortalite açısından fark görülmedi ($p=0,746$). Vericisi G-CSF alan grupta ölüm zamanı ortalama 16 ay iken, G-CSF almayan grupta ise ortalama 10,9 ay olarak saptandı ($p=0,465$).

5.4.6. Yaşam analizleri

Çalışmamızda tüm hastaların 38,8 aylık sürede (%95 CI: 35,4-42,3) genel sağkalım oranı $80,5 \pm 5,7$ saptandı ve iki grup arasında fark bulunamadı ($p=0,762$). Bu da nakil için kemik iliği kaynaklı KH alanlarda G-CSF mobilizasyonunun mortalitede olduğu gibi, beklenen yaşam süresinde de kötü etkisi olmadığını gösterdi. Ayrıca ilk yıl farklı olmakla birlikte (Şekil 4.4) olaysız sağ kalım üzerinde de vericinin G-CSF kullanmasının kötü etkisi izlenmemiştir. Çalışma zamanı uzadıkça ve olgu sayısı arttıkça, sonuçların değişebileceği akılda tutulmalıdır.

Sonuç olarak; çocuklarda G-CSF kullanımı kök hücre mobilizasyonu için etkin bir yöntem olup özellikle alıcı ve verici arasında boyut uygunsuzluğu olanlarda, GvHH riskini arttırmadan güvenle kullanılabilir. Ayrıca nakil öncesinde verici özelliklerinin özellikle de verici boyu ve trombosit sayısının $CD34^+$ hücre sayısı hakkında bilgi verdiği göz önünde bulundurulmalıdır.

6. SONUÇLAR

1. Vericisi G-CSF alanların kök hücre lökosit, nötrofil, lenfosit, monosit, CD34/ μ L ve çekirdekli hücre sayısı almayanlara göre daha yüksek saptandı.
2. Biyobenzer filgrastimin ve lenograstimin kök hücre mobilizasyonunda etkin olduğu görüldü.
3. Vericisi G-CSF alanların kök hücre hacmi almayanlara göre daha azdı.
4. Vericisi G-CSF alanların ürün toplama sonrası Hgb düşüklüğü daha azdı ve işlem esnasında daha az sıklıkta hipotansiyon görüldü.
5. Verici boyunun, verici lökosit ve trombosit sayılarının kök hücre CD34 sayısını etkilediği gözlemlendi.
6. Vericisi G-CSF alan grupta BFU-E ve CFU-GM koloni sayıları almayanlara göre daha yüksek bulundu.
7. Vericisi G-CSF alan ve almayanların nötrofil engraftmanı, trombosit engraftmanı ve yatış süreleri arasında fark gözlenmedi. Bu durum her iki gruba yeterli CD34⁺ kök hücre verilmesine ve nakil sonrasında hastalara G-CSF uygulanmasına bağlı olduğu düşünüldü.
8. Lösemi ve fanconi aplastik anemi grubunda nötrofil ve trombosit engraftman zamanlarının talasemi major grubuna göre daha erken olduğu görüldü.
9. Vericisi G-CSF alan ve almayanlar arasında nakil sonrası eritrosit ve trombosit süspansiyon transfüzyonu açısından fark tespit edilmedi.
10. Vericisi G-CSF alan grupta enfeksiyon sıklığı istatistiksel olarak anlamlı olmasada almayanlara göre daha az gözlemlendi.
11. Vericisi G-CSF alan ve almayanlar arasında engraftman sendromu açısından fark saptanmadı.
12. Vericisi G-CSF alan ve almayan gruplar arasında evre II-IV akut graft versus host hastalığı benzer oranda tespit edildi. Ancak vericisi G-CSF alan grupta akut GvHH'nin daha erken ortaya çıktığı görüldü.

13. Vericisi G-CSF alan ve almayan grupta kronik GvHH benzer oranda saptandı. Vericisine G-CSF uygulanması kronik GvHH görülme olasılığını arttırmadığı görüldü.
14. Vercisi G-CSF alan ve almayanlarda mukozit benzer oranda gözlemlendi. Bu durum nakil sonrası hastalara G-CSF uygulanmasına ve nötrofil engraftman sürelerinin benzer olmasına bağlandı.
15. Vericisi G-CSF alan ve almayanlarda relaps ya da otolog geri dönüş oranları benzerdi. Ancak vericisi G-CSF alanlarda relaps ya da otolog geri dönüşün daha geç ortaya çıktığı görüldü.
16. Vericisi G-CSF alan ve almayanlarda ölüm oranları açısından fark gözlenmedi.
17. Çalışmamızda toplam 38,8 aylık sürede (%95 CI: 35,4-42,3) tüm hastaların genel sağkalım oranı $80,5 \pm 5,7$ olarak saptandı. Vericisi G-CSF alan grubun 35 aylık süredeki (%95 CI: 30,4,-39,7) GSO $78,6 \pm 8,7$ iken, G-CSF almayan grubun 39,5 aylık sürede (%95 CI: 35-43,9) GSO $82,5 \pm 7,4$ olarak hesaplandı. Bu iki grup arasında GSO açısından fark saptanmadı.
18. Çalışmamızda ALL tanılı hastalarda 33,8 aylık sürede (%95 CI: 24,7-43) GSO $66,6 \pm 13,8$, AML tanılı hastalarda ise 31,4 aylık sürede (%95 CI: 23-39,8) GSO $61,3 \pm 13,8$ olarak bulundu. Talasemi grubunda 38,9 aylık sürede (%95 CI: 36,1-41,8) GSO $94,1 \pm 5,7$ olarak bulundu.
19. Çalışmamızda tüm hastaların 35 aylık sürede (%95 CI: 30,8-39,2) olaysız sağkalım oranı (OSO) $71,5 \pm 6,2$ olarak saptandı. Vericisi G-CSF alan grubun 33,6 aylık sürede (%95 CI: 28,5-38,8) OSO $75,4 \pm 8,9$ iken G-CSF almayan grubun 33,8 aylık sürede (%95 CI: 28-39,6) OSO $69,2 \pm 8,3$ olarak hesaplandı. Gruplar arasında fark saptanmadı.
20. Çalışmamızda ALL tanılı hastalarda 30,5 aylık sürede (%95 CI: 20,6-40,4) tahmini OYO $58,6 \pm 14,4$, AML tanılı hastalarda ise 24,5 aylık sürede (%95 CI: 15-34,1) tahmini OYO $46,4 \pm 13,8$ olarak bulundu. Talasemi grubunda 34,4 aylık sürede (%95 CI: 29-39,8) tahmini OYO $78,7 \pm 10,3$ olarak tespit edildi.

21. Çocuklarda G-CSF kullanımı kök hücre mobilizasyonu için etkin bir yöntem olup özellikle alıcı ve verici arasında boyut uygunsuzluğu olanlarda, GvHH riskini arttırmadan güvenle kullanılabileceği akılda tutulmalıdır. Ayrıca nakil öncesinde verici özelliklerinin özellikle de verici boyu ve trombosit sayısının CD34⁺ hücre sayısını etkileyebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Copelan EA. Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *N Engl J Med* 2006; 354: 1813-26.
2. Ringdén O and Le Blanc K. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: state of the art and new perspectives. *APMIS* 2005;113:813-30.
3. Aschan J. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: current status and future outlook. *Br Med Bull* 2006;77-78: 23-36.
4. Anderlini P, Rizzo JD, Nugent ML et al. Peripheral blood stem cell donation: an analysis from the International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) and European Group for Blood and Marrow Transplant (EBMT) databases. *Bone Marrow Transplant* 2001;27: 689-92.
5. Grupp SA, Frangoul H, Wall D et al. Use of G-CSF in Matched Sibling Donor Pediatric Allogeneic Transplantation: A Consensus Statement from the Children's Oncology Group (COG) Transplant Discipline Committee and Pediatric Blood and Marrow Transplant Consortium (PBMTTC) Executive Committee. *Pediatr Blood Cancer* 2006;45: 414-21.
6. Rutella S. Granulocyte colony-stimulating factor for the induction of T-cell tolerance. *Transplantation*. 2007;84: 26-30.
7. Rutella S, Pierelli L, Bonanno G et al. Role for granulocyte colony-stimulating factor in the generation of human T regulatory type 1 cells. *Blood*. 2002;100:2562-71.
8. Arcese W, De Angelis G and Cerretti R. Granulocyte-mobilized bone marrow. *Curr Opin Hematol* 2012;19: 448-53.
9. Vasu S, Leitman SF, Tisdale JF et al. Donor demographic and laboratory predictors of allogeneic peripheral blood stem cell mobilization in an ethnically diverse population. *Blood* 2008;112:2092-2100.

10. Suzuya H, Watanabe T, Nakagawa R et al. Factors associated with granulocyte colony stimulating factor-induced peripheral blood stem cell yield in healthy donors. *Vox Sang* 2005; 89: 229-235.
11. Anderlini P, Przepiorka D, Seong C et al. Factors affecting mobilization of CD34+ cells in normal donors treated with filgrastim. *Transfusion* 1997; 37: 507-512.
12. Wang TS, Wen SH, Chen RL et al. Factors Associated with Peripheral Blood Stem Cell Yield Volunteer Donors Mobilized with Granulocyte Colony-Stimulating Factors: The Impact of Donor Characteristics and Procedural Settings. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14: 1305-11.
13. Weissman IL. Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: barriers and opportunities. *Science*. 2000;287:1442-6.
14. Vescovi A, Gritti A, Cossu G, Galli R. Neural stem cells: plasticity and their transdifferentiation potential. *Cells, tissues, organs*. 2002;171:64-76.
15. Rossetti M, Gregori S, Roncarolo MG. Granulocyte-colony stimulating factor drives the in vitro differentiation of human dendritic cells that induce anergy in naive T cells. *European journal of immunology*. 2010;40:3097-106.
16. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998;282:1145-7.
17. Tyndall A, Uccelli A. Multipotent mesenchymal stromal cells for autoimmune diseases: teaching new dogs old tricks. *Bone marrow transplantation*. 2009;43:821-8.
18. Durand C, Dzierzak E. Embryonic beginnings of adult hematopoietic stem cells. *Haematologica*. 2005;90:100-8.
19. Sigvardsson M. New light on the biology and developmental potential of haematopoietic stem cells and progenitor cells. *Journal of internal medicine*. 2009;266:311-24.
20. Kaushansky K. Lineage-specific hematopoietic growth factors. *New Eng J Med* 2006;354:2034-45.

21. Martinez-Agosto JA, Mikkola HK, Hartenstein V, Banerjee U. The hematopoietic stem cell and its niche: a comparative view. *Genes & development* 2007;21:3044-60.
22. Yin T, Li L. The stem cell niches in bone. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116:1195-201.
23. Alvarez P, Carrillo E, Vélez C et al. Regulatory Systems in Bone Marrow for Hematopoietic Stem/Progenitor Cells Mobilization and Homing. *Biomed Res Int*. 2013 doi: 10.1155/2013/312656. Epub 2013 Jun 17.
24. Moore KA, Lemischka IR. Stem cells and their niches. *Science*. 2006; 311: 1880-5
25. Li Z, Li L. Understanding hematopoietic stem-cell microenvironments. *Trends in biochemical sciences*. 2006;31:589-95.
26. Nakamura-Ishizu A, Suda T. Hematopoietic stem cell niche: An interplay among a repertoire of multiple functional niches. *Biochim Biophys Acta* 2013;1830:2404-9
27. Passegué E, Jamieson CHM, Ailles C, Weissman K. Normal and leukemic hematopoiesis: Are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proc Natl Acad Sci* 2003; 30: 11842-9.
28. Shiozawa Y, Havens AM, Pienta KJ, Taichman RS. The bone marrow niche: habitat to hematopoietic and mesenchymal stem cells, and unwitting host to molecular parasites. *Leukemia: official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, UK*. 2008;22:941-50.
29. Shizuru JA, Negrin RS, Weissman IL. Hematopoietic stem and progenitor cells: clinical and preclinical regeneration of the hematolymphoid system. *Annual review of medicine*. 2005; 56: 509-38.
30. Anderlini P. Effects and safety of granulocyte colony-stimulating factor in healthy volunteers. *Current opinion in hematology* 2009;16:35-40.
31. Gutierrez-Delgado F, Bensinger W. Safety of granulocyte colony-stimulating factor in normal donors. *Curr Opin Hematol* 2001;8:155-60.
32. Demetri GD, Griffin JD. Granulocyte colony-stimulating factor and its receptor. *Blood* 1991;78:2791-808.

33. Eyles JL, Roberts AW, Metcalf D, Wicks IP. Granulocyte colony-stimulating factor and neutrophils-forgotten mediators of inflammatory disease. *Nature clinical practice Rheumatology* 2006;2:500-10.
34. Kawakami M, Tsutsumi H, Kumakawa T, Abe H, Hirai M, Kurosawa S, Mori M, Fukushima M. Levels of serum granulocyte colony-stimulating factor in patients with infections. *Blood*. 1990; 76: 1962-4
35. Franzke A, Piao W, Lauber J, Gatzlaff P, Konecke C, Hansen W, et al. G-CSF as immune regulator in T cells expressing the G-CSF receptor: implications for transplantation and autoimmune diseases. *Blood*. 2003;102:734-9.
36. Kirsch F, Kruger C, Schneider A. The receptor for granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) is expressed in radial glia during development of the nervous system. *BMC developmental biology* 2008;8:32.
37. Anderlini P and Champlin RE. Biologic and molecular effects of granulocyte colony-stimulating factor in healthy individuals: recent findings and current challenges. *Blood* 2008;111:1767-72.
38. Liongue C, Wright C, Russell AP, Ward AC. Granulocyte colony-stimulating factor receptor: stimulating granulopoiesis and much more. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2009;41:2372-5.
39. Sari N, Dalva K, İlhan İE. Comparison of Filgrastim and Lenograstim in Pediatric Solid Tumors. *Pediatr Hematol Oncol* 2013;30:655-661.
40. Price TH, Chatta GS, Dale DC. Effect of recombinant granulocyte colony stimulating factor on neutrophil kinetics in normal young and elderly humans. *Blood* 1996;88:335-40.
41. Mielcarek M, Graf L, Johnson G, Torok-Storb B. Production of interleukin-10 by granulocyte colony-stimulating factor-mobilized blood products: a mechanism for monocyte-mediated suppression of T-cell proliferation. *Blood* 1998;92:215-22.
42. Karawajczyk M, Hoglund M, Ericsson J, Venge P. Administration of G-CSF to healthy subjects: the effects on eosinophil counts and mobilization

- of eosinophil granule proteins. *British journal of haematology*. 1997;96:259-65.
43. Shimoda K, Okamura S, Harada N et al. Identification of a functional receptor for granulocyte colony-stimulating factor on platelets. *The Journal of clinical investigation*. 1993;91:1310-3.
 44. LeBlanc R, Roy J, Demers C, et al. A prospective study of G-CSF effects on hemostasis in allogeneic blood stem cell donors. *Bone Marrow Transpl* 1999; 23: 991–996.
 45. Falanga A, Marchetti M, Evangelista V et al. Neutrophil activation and hemostatic changes in healthy donors receiving granulocyte colony-stimulating factor. *Blood*. 1999;93:2506-14.
 46. Sohngen D, Wienen S, Siebler M et al. Analysis of rh G-CSF-effects on platelets by in vitro bleeding test and transcranial Doppler ultrasound examination. *Bone marrow transplantation* 1998;22:1087-90.
 47. Zhu J, Yamane H, Cote-Sierra J, Guo L, Paul WE. GATA-3 promotes Th2 responses through three different mechanisms: induction of Th2 cytokine production, selective growth of Th2 cells and inhibition of Th1 cell-specific factors. *Cell research* 2006;16:3-10.
 48. Cashen AF, Lazarus HM, Devine SM. Mobilizing stem cells from normal donors: is it possible to improve upon G-CSF? *Bone Marrow Transplant* 2007;39:577-588.
 49. Nervi B, Link DC, DiPersio JF. Cytokines and hematopoietic stem cell mobilization. *Journal of cellular biochemistry*. 2006;99:690-705.
 50. Semerad CL, Liu F, Gregory AD et al. G-CSF is an essential regulator of neutrophil trafficking from the bone marrow to blood. *Immunity* 2002;17:413-423.
 51. Buzzeo MP, Yang J, Casella G, Reddy V. Hematopoietic stem cell mobilization with G-CSF induces innate inflammation yet suppresses adaptive immune gene expression as revealed by microarray analysis. *Exp Hematol* 2007; 35: 1456-65.

52. Takamatsu Y, Simmons PJ, Moore RJ et al. Osteoclast-mediated bone resorption is stimulated during short-term administration of granulocyte colony-stimulating factor but is not responsible for hematopoietic progenitor stem cell mobilization. *Blood* 1998; 92: 3465-3473.
53. Murata M, Harada M, Kato S, et al. Peripheral blood stem cell mobilization and apheresis: analysis of adverse events in 94 normal donors. *Bone Marrow Transpl* 1999;24: 1065–71.
54. Chen SH, Yang SH, Chu SH et al. The role of donor characteristics and post-granulocyte colony-stimulating factor white blood cell counts in predicting the adverse events and yields of stem cell mobilization. *Int J Hematol* 2011;93:652-659.
55. Platzbecker U, Prange-Krex G, Bornhauser M et al. Spleen enlargement in healthy donors during G-CSF mobilization of PBPCs. *Transfusion* 2001; 41: 184–189.
56. Stroncek D, Dittmar K, Shawker T et al. Transient spleen enlargement in peripheral blood progenitor cell donors given G-CSF. *J Transl Med* 2004; 2: 25.
57. Tighe CC, McKoy JM, Evens AM et al. Granulocyte-colony stimulating factor administration to healthy individuals and persons with chronic neutropenia or cancer: an overview of safety considerations from the Research on Adverse Drug Events and Reports project. *Bone Marrow Transplant* 2007;40:185-192.
58. Nuamah NM, Goker H, Kilic YA, Dagmoura H, Cakmak A. Spontaneous splenic rupture in a healthy allogeneic donor of peripheral-blood stem cell following the administration of granulocyte colony-stimulating factor (g-csf). A case report and review of the literature. *Haematologica*. 2006;91:ECR08.
59. Heil G, Hoelzer D, Sanz MA, et al. A randomized, double-blind, placebo controlled, phase III study of Filgrastim in remission induction and consolidation therapy for adults with *de novo* acute myeloid leukemia. *Blood* 1997, 90: 4710–4718.

60. Moore JO, Dodge RK, Amrein PC et al. Granulocyte-colony stimulating factor (filgrastim) accelerates granulocyte recovery after intensive postremission chemotherapy for acute myeloid leukemia with aziridinyl benzoquinone and mitoxantrone: Cancer and Leukemia Group B Study 9022. *Blood* 1997, 89: 780–788.
61. Freedman MH, Bonilla MA, Fier C, et al. Myelodysplasia syndrome and acute myeloid leukemia in patients with congenital neutropenia receiving G-CSF therapy. *Blood* 2000, 96: 429–436.
62. Bennett CL, Evens AM, Andritsos LA et al. Hematologic malignancies developing in previously healthy individuals who received hematopoietic growth factors: report from the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) project. *Br J Haematol* 2006; 135: 642–650.
63. Makita K, Ohta K, Mugitani A et al. Acute myelogenous leukemia in a donor after granulocyte colony-stimulating factor-primed peripheral blood stem cell harvest. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33: 661–665.
64. Haining W. N DC, Lehmann L.E. Principles of bone marrow and stem cell transplantation. In: Orkin S.H NDG, Ginsburg D, Look A.T, Fisher D.E, Lux S.E., editor. *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*. 7 th ed. Canada: Saunders Elsevier; 2009. p. 355-367.
65. MacHida U, Tojo A, Takahashi S et al. The effect of granulocyte colony-stimulating factor administration in healthy donors before bone marrow harvesting. *Br J Haematol* 2000; 108: 747-53
66. Kim H, Kang HJ, Lee JW et al. Early engraftment of G-CSF-primed allogeneic bone marrow transplantation in pediatric patients regardless of donor-recipient weight differences. *Ann Hematol*. 2012; 91: 751-8
67. Buckner CD, Clift RA, Sanders JE et al. Marrow harvesting from normal donors. *Blood* 1984; 64: 630–4.
68. Stroncek DF, Holland PV, Bartch G et al. Experiences of the first 493 unrelated marrow donors in the National Marrow Donor Program. *Blood* 1993; 81: 1940–6.
69. Favre G, Beksaç M, Bacigalupo A et al. European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Differences between graft product and

- donor side effects following bone marrow or stem cell donation. *Bone Marrow Transplant*. 2003; 32: 873-80
70. Confer DL, Miller JP, Chell JW. Bone Marrow and Peripheral Blood Cell Donors and Donor Registries. In: Appelbaum FR, Forman SJ, Negrin RS, Blume KG. *Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation*, Fourth Edition. Oxford, Wiley-Blackwell, 2007, p:544-58.
 71. Methany L, Caimi P, de Lima M. Cord blood transplantation: can we make it better? *Front Oncol* 2013;17: a238.
 72. Mielcareck M, Martin PJ, Torok-Storb B. Suppression of alloantigeninduced T-cell proliferation by CD14⁺ cells derived from granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells. *Blood* 1997; 89:1629–1634.
 73. Couban S, Simpson DR, Barnett MJ et al. A randomized multicenter comparison of bone marrow and peripheral blood in recipients of matched sibling allogeneic transplants for myeloid malignancies. *Blood* 2002;100:1525–1531.
 74. Champlin RE, Schmitz N, Horowitz MM, et al. Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. IBMTR Histocompatibility and Stem Cell Sources Working Committee and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Blood* 2000;95: 3702–3709.
 75. Flowers ME, Parker PM, Johnston LJ, et al. Comparison of chronic graft-versus-host disease after transplantation of peripheral blood stem cells versus bone marrow in allogeneic recipients: Long-term follow-up of a randomized trial. *Blood* 2002;100:415–419.
 76. Schrezenmeier A, Bredeson C, Bruno B, et al. Comparison of allogeneic bone marrow and peripheral blood-stem cell transplantation for aplastic anemia: collaborative study of EBMT and IBMTR. *Blood*. 2003;102:267.
 77. Chang YJ, Huang XJ. Use of G-CSF-stimulated marrow in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation settings: a comprehensive review. *Clin transplant* 2011;25:13-23.

78. Shier LR, Schultz KR, Imren S, et al. Differential effects of granulocyte colony-stimulating factor on marrow and blood derived hematopoietic and immune cell populations in healthy human donors. *Biol Blood Marrow Transplant* 2004; 10:624–634.
79. Jun HX, Jun CY, Yu ZX. In vivo induction of T-cell hyporesponsiveness and alteration of immunological cells of bone marrow grafts using granulocyte colony-stimulating factor. *Haematologica* 2004; 89: 1517.
80. Ji SQ, Chen HR, Xun CQ et al. The effect of G-CSF-stimulated donor marrow on engraftment and incidence of graft-versus-host disease in allogeneic bone marrow transplantation. *Clin Transplant* 2001;15:317-323.
81. Chiang KY, Haight A, Horan J et al. Clinical outcomes and graft characteristics in pediatric matched sibling donor transplants using granulocyte colony-stimulating factor-primed bone marrow and steady-state bone marrow. *Pediatr Transplantation* 2007;11:279-285.
82. Kim H-J, Min W-S, Cho B-S, et al. Overcoming various comorbidities by G-CSF-primed unmanipulated BM SCT in adult patients with AML. *Bone Marrow Transplant* 2009; 44: 345–351.
83. Zhu L, Zhou LK, Xue M et al. Factors impacting yield of CD34+ cells from healthy donors mobilized with rhG-CSF. *Zhongguo Shi Yan Xue Za Zhi* 2009; 17: 1541-5.
84. Jacobsohn DA. Acute graft versus host disease in children. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 215-221.
85. Sung AD, Chao NJ. Concise Review: Acute Graft-Versus-Host Disease: Immunobiology, Prevention, and Treatment. *Stem Cell Transl Med* 2013; 2: 25-32.
86. Zeiser R, Penack O, Holler E et al. Danger signals activating innate immunity in graft-versus-host disease. *J Mol Med(Berl)* 2011; 89: 833–845.
87. Matte CC, Liu J, Cormier J et al. Donor APCs are required for maximal GVHD but not for GVL. *Nat Med* 2004; 10: 987–992
88. Bleakley M, Riddell SR. Exploiting T cells specific for human minor histocompatibility antigens for therapy of leukemia. *Immunol Cell Biol* 2011; 89: 396–407.

89. Palmer LA, Sale GE, Balogun JI et al. Chemokine receptor CCR5 mediates alloimmune responses in graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16: 311–319.
90. Braun MY, Lowin B, French L et al. Cytotoxic T cells deficient in both functional fas ligand and perforin show residual cytolytic activity yet lose their capacity to induce lethal acute graft-versus-host disease. *J Exp Med* 1996;183: 657–661.
91. Apperley J, Masszi T. Graft versus host disease. In: Hematopoietic Stem Cell Transplantation, The EBMT Handbook. Eds: Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Masszi T. European School of Hematology, 2012, p:257-279.
92. Eapen M, Horowitz MM, Klein JP et al. Higher mortality after allogeneic peripheral-blood transplantation compared with bone marrow in children and adolescents: the Histocompatibility and Alternate Stem Cell Source Working Committee of the International Bone Marrow Transplant Registry. *J Clin Oncol* 2004; 22: 4872–4880.
93. Woolfrey AE, Anasetti C, Storer B et al. Factors associated with outcome after unrelated marrow transplantation for treatment of acute lymphoblastic leukemia in children. *Blood* 2002; 99: 2002–2008.
94. Cutler C, Giri S, Jeyapalan S et al. Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3685–3691.
95. Ferrara JLM, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet* 2009;373:1550-61.
96. Glucksberg H, Storb R, Fefer A et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation* 1974; 18: 295–304.
97. Rowlings PA, Przepiorka D, Klein JP et al. IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease: Retrospective comparison with Glucksberg grade. *Br J Haematol* 1997; 97: 855– 864
98. Paczesny S, Braun TM, Levine JE et al. Elafin is a biomarker of graft-versus-host disease of the skin. *Sci Transl Med* 2010;2: 13ra2.

99. Weisdorf D, Haake R, Blazar B et al. Treatment of moderate/severe acute graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation: an analysis of clinical risk features and outcome. *Blood* 1990; 75: 1024–1030
100. Macmillan ML, Weisdorf DJ, Wagner JE et al. Response of 443 patients to steroids as primary therapy for acute graft-versus-host disease: comparison of grading systems. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002; 8: 387–394.
101. Pavletic SZ, Vogelsang GB. Chronic Graft-versus-Host Disease: Clinical Manifestations and therapy. In: Appelbaum FR, Forman SJ, Negrin RS, Blume KG. *Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation*, Fourth Edition. Oxford, Wiley-Blackwell, 2007, p:1304-25.
102. Shlomchik WD, Lee SJ, Couriel D, Pavletic SZ. Transplantation's greatest challenges: advances in chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13: 2–10.
103. Tivol E, Komorowski R, Drobyski WR. Emergent autoimmunity in graft-versus-host disease. *Blood* 2005; 105: 4885–91.
104. Ehrenstein MR, Evans JG, Singh A et al. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNF alpha therapy. *J Exp Med* 2004; 200:277–85.
105. Miyara M, Amoura Z, Parizot C et al. Global natural regulatory T cell depletion in active systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2005; 175:8392–400.
106. Rieger K, Loddenkemper C, Maul J et al. Mucosal FOXP3⁺ regulatory T cells are numerically deficient in acute and chronic GvHD. *Blood* 2006; 107:1717–18.
107. Lee SJ, Vogelsang G, Flowers MED. Chronic Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003; 9: 215-233.
108. Storek J, Gooley T, Siadak M, et al. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation may be associated with a high risk of chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 1997; 90: 4705-4709.
109. Snowden JA, Nivison-Smith I, Atkinson K, et al. Allogeneic PBPC transplantation: an effect on incidence and distribution of chronic graft-

- versus-host disease without long-term survival benefit? Bone Marrow Transplant. 2000; 25: 119-120.
110. Cutler C, Giri S, Jeyapalan S, et al. Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral- blood stemcell and bone marrow transplantation: a meta-analysis. J Clin Oncol. 2001; 19: 3685-3691.
 111. Morton J, Hutchins C, Durrant S. Granulocyte-colony-stimulating factor (G-CSF)-primed allogeneic bone marrow: significantly less graft-versus-host disease and comparable engraftment to G-CSF-mobilized peripheral blood stem cells. Blood. 2001; 98: 3186-3191.
 112. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. Diagnosis and Staging Working Group Report. Biol Blood Marrow Transplant 2005; 11: 945-955.
 113. Cancer Therapy Evaluation Program. Common Toxicity Criteria version 2.0. http://eortc.be/services/doc/ctc/ctcv20_4-30-992.pdf.
 114. Sodani P, Gaziev D, Polchi P, et al. New approach for bone marrow transplantation in patients with class 3 thalassemia aged younger than 17 years. Blood. 2004 Aug 15;104:1201-3.
 115. McDonald GB, Hinds MS, Fisher LD et al. Veno-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. Ann Intern Med. 1993 Feb 15;118:255-67.
 116. Perez LE, Alpdogan O, Shieh JH et al. Increased plasma levels of stromal-derived factor-1 (SDF-1/CXCL12) enhance human thrombopoiesis and mobilize human colony-forming cells (CFC) in NOD/SCID mice. Exp Hematol 2004;32:300-7.
 117. Nomura S, Inami N, Kanazawa T et al. Elevation of platelet activation markers and chemokines during peripheral blood stem cell harvest with G-CSF. Stem Cells 2004;22:696-703.
 118. Pérez-López O, Martín-Sánchez J, Parody-Porras R et al. Lenograstim compared to filgrastim for the mobilization of hematopoietic stem cells in healthy donors. Transfusion 2013;53:3240-2.

119. Martino M, Console G, Irrera G et al. Harvesting peripheral blood progenitor cells from healthy donors: retrospective comparison of filgrastim and lenograstim. *J Clin Apher* 2005;20:129-36.
120. Höglund M, Smedmyr B, Bengtsson M et al. Mobilization of CD34+ cells by glycosylated and non-glycosylated G-CSF in healthy volunteers-a comparative study. *Eur J Haematol* 1997;59:177-83.
121. Sivgin S, Karakus E, Kaynar L et al. The comparison of Filgrastim (Neupogen®), biosimilar filgrastim (Leucostim®) and Lenograstim (Granocyte®) as a first line peripheral blood stem cell mobilization strategy in autologous hematopoietic stem cell transplantation: A single center experience from Turkey. *Transfusion and Apheresis Science* 2013;48:315-20.
122. Isola L, Scigliano E, Fruchtman S. Long-term follow-up after allogeneic granulocyte colony-stimulating factor primed bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2000;6:428-33.
123. Serody JS, Sparks SD, Lin Y et al. Comparison of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)-mobilized peripheral blood progenitor cells and G-CSF-stimulated bone marrow as a source of stem cells in HLA-matched sibling transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2000;6:434-40.
124. Ostronoff M, Ostronoff P, Maior PS et al. Pilot study of Allogeneic G-CSF-Stimulated Bone Marrow Transplantation: Harvest, Engraftment and Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006;12:729-733.