

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**VİTAMİN D DÜZEYİNİN
ALLOJENEİK HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE
MOBİLİZASYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. ERHAN HOCAOĞLU**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ZEYNEP ARZU YEĞİN**

**ANKARA
TEMMUZ 2019**

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

VİTAMİN D DÜZEYİNİN
ALLOJENEİK HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE
MOBİLİZASYONU ÜZERİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. ERHAN HOCAOĞLU

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. ZEYNEP ARZU YEĞİN

ANKARA

TEMMUZ 2019

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bilgisi, deneyimi ve etik değerlere yaklaşımıyla bana yol gösteren, bu süreçteki bütün zorlukları aşmama yardım eden değerli tez danışmanım Prof. Dr. Zeynep Arzu YeğİN'e; desteklerinden dolayı Uzm. Dr. Ferda Can'a; tez verilerinin temininde önemli yardımları olan ve işini severek yapan kök hücre nakil ünitesi çalışanlarına; asistanlık eğitimim süresince emekleriyle mesleki anlamda gelişmemize katkısı bulunan başta İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Selim Turgay Arınsoy olmak üzere tüm değerli öğretim üyelerine; birlikte vakit geçirdiğimiz tüm asistan arkadaşlarım ve sağlık çalışanlarına saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çocukluğumdan beri sevgi ve güvenini esirgemeyen, yaptıkları fedakarlıklarla bugünlere gelmemde katkısı bulunan sevgili aileme; sevgisiyle her zaman yanımda olan eşime en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Dr. Erhan Hocaoglu

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Erhan HOCAOĞLU
Baba Adı	Recep
Doğum Yeri/Tarihi	Bursa / 12.02.1990
Diploma Tarihi / Diploma No	27.06.2014 / 14-311-107
Mezun Olduğu Fakülte	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	İç Hastalıkları Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	Yıl: 4 yıl 6 ay Ay: 54 ay
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: Vitamin D Düzeyinin
Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Mobilizasyonu Üzerine Etkisi

TEZ SUNUM TARİHİ: 23.07.2019

JÜRİ KARARI: İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi doktor olarak çalışmakta olan Erhan Hocaoglu'nun "Vitamin D Düzeyinin Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Mobilizasyonu Üzerine Etkisi" isimli tezi uzmanlık tezi olarak kabul edilmiş ve başarılı bulunmuştur. Uzmanlık sınavına girmeye hak kazanmıştır.

JÜRİ ÜYELERİ

BAŞKAN

Prof. Dr. Zeynep Arzu Yılmaz

ÜYE

Prof. Dr. Zeynep Arzu Yılmaz

ÜYE

Dr. Merih Kızıl Sahar

İÇİNDEKİLER

Teşekkür.....	i
Kabul ve Onay.....	ii
İçindekiler.....	iii
Kısaltmalar.....	vii
Tablolar Dizini.....	x
Şekiller Dizini.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Kök Hücre ve Hematopoez.....	4
2.1.1. Kök Hücreler.....	4
2.1.2. Hematopoietik Kök Hücre ve Hematopoez.....	7
2.1.3. Hematopoietik Kök Hücre Mikroçevresi (Niş).....	12
2.1.4. Hematopoietik Kök Hücre Kaynakları.....	17
2.1.4.1. Kemik İliği.....	17
2.1.4.2. Çevre Kanı.....	17
2.1.4.3. Umbilikal Kord (Kordon) Kanı.....	19

2.1.4.4. Embriyonik Kök Hücreler.....	20
2.2. Hematopoietik Kök Hücre Nakli.....	21
2.3. Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli.....	22
2.3.1. Tanım ve Endikasyonlar.....	22
2.3.2. Hazırlama Rejimleri.....	23
2.3.3. Uygun Vericinin Seçimi.....	24
2.3.4. Verici Çevre Kanından Kök Hücre Toplanması.....	28
2.3.4.1. Mobilizasyon İşlemi.....	28
2.3.4.2. Granülosit-Koloni Stimüle Edici Faktör Etki Mekanizması.....	29
2.3.4.3. Granülosit-Koloni Stimüle Edici Faktör Yan Etkileri.....	30
2.3.4.4. Aferez İşlemi.....	31
2.3.4.5. Hedeflenen Kök Hücre Ürün Miktarı.....	32
2.4. D Vitamini.....	34
2.4.1. D Vitamini Metabolizması.....	34
2.4.2. D Vitamini Eksikliği.....	36
2.4.3. Vitamin D Reseptörü.....	37
2.4.4. D Vitamininin Fonksiyonları.....	38
2.4.5. D Vitamininin İmmün ve Hematopoietik Sistem Üzerine Etkileri.....	40

2.4.6. D Vitamini ve Hematopoietik Kök Hücre Nakli.....	43
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	46
3.1. Çalışma Şekli.....	46
3.2. Kök Hücre Vericileri.....	46
3.3. Aydınlatılmış Onam.....	48
3.4. Kök Hücre Mobilizasyonu ve Aferez.....	48
3.4.1. Çevre Kanı ve Aferez CD34 ⁺ Hücre Sayımı.....	49
3.4.2. Aferez İşlemi.....	49
3.5. Etik Kurul Onayı ve Bütçe.....	50
3.6. İstatistiksel Analiz.....	50
4. BULGULAR.....	51
4.1. Vericilerin Genel Özellikleri.....	51
4.2. Mobilizasyon ve Aferez Sonuçları.....	52
4.3. D Vitamini ve Diğer Laboratuvar Verilerine Ait Sonuçlar.....	55
4.4. Korelasyon Analizleri.....	59
4.5. Alt Grup Analizleri.....	61
4.5.1. D Vitamini Temelli Alt Grup Analizleri.....	61
4.5.2. Çevre Kanı CD34 ⁺ Hücre Sayılarına Göre Alt Grup Analizleri.....	65

4.5.3. İlk Ürün CD34 ⁺ Hücre Sayılarına Göre Alt Grup Analizleri.....	67
4.5.4. Toplam Ürün CD34 ⁺ Hücre Sayılarına Göre Alt Grup Analizleri.....	68
4.5.5. Verici Yaşı Temelli Alt Grup Analizleri.....	68
4.5.6. C-Reaktif Protein Temelli Alt Grup Analizleri	69
4.5.7. Transferrin Saturasyonu Temelli Alt Grup Analizleri.....	70
4.5.8. Ferritin Temelli Alt Grup Analizleri.....	72
4.5.9. Vücut Kitle İndeksi Temelli Alt Grup Analizleri.....	74
4.5.10. Diğer Alt Grup Analizleri.....	75
5. TARTIŞMA.....	78
6. SONUÇ.....	102
7. KAYNAKLAR.....	103
8. ÖZET.....	141
9. SUMMARY.....	143
10. ÖZGEÇMİŞ.....	145

KISALTMALAR

AA: Aplastik Anemi

AAD: Amino-aktinomisin D

ACD-A: Asit Sitrat Dekstroz Solüsyon A

AKHN: Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli

ALL: Akut Lenfoblastik Lösemi

ALT: Alanin Amino Transferaz

ALP: Alkalen Fosfataz

AML: Akut Myeloid Lösemi

ATG: Anti-Timosit Globülin

BSHI: İngiliz Doku Uyum ve İmmünogenetik Derneği (British Society for Histocompatibility and Immunogenetics)

BUN: Kan Üre Nitrojeni

CAR: CXCL12'den Zengin Retiküler Hücreler

CLIA: Kemilüminesans İmmünoanaliz

CLP: Common Lymphoid Progenitor (Ortak Lenfoid Öncül)

CMP: Common Myeloid Progenitor (Ortak Myeloid Öncül)

CMV: Sitomegalovirüs

CRP: C-Reaktif Protein

CXCL 12: Kemokin CXC Ligand 12

DNA: Deoksiribonükleik Asit

EBMT: Avrupa Kan ve Kemik İliği Nakli Derneği (European Society for Blood and Marrow Transplantation)

EDTA: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit

EPO: Eritropoietin

FDA: Gıda ve İlaç Kurumu (Food and Drug Administration)

FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü

G-CSF: Granülosit-Koloni Stimüle Edici Faktör

GM-CSF: Granülosit-Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
GMP: Granülosit-Makrofaj Öncülü
GÜTF: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
GVHH: Graft-versus-Host Hastalığı
HDL: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HKH: Hematopoietik Kök Hücre
HL: Hodgkin Lenfoma
HLA: İnsan Lökosit Antijeni
IFN: İnterferon
IL: İnterlökin
IU: International Units
KHN: Kök Hücre Nakli
KLL: Kronik Lenfositik Lösemi
KML: Kronik Myeloid Lösemi
LDH: Laktat Dehidrogenaz
LDL: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LIF: Lösemi İnhibitör Faktör
LMPP: Lenfoid Multipotent Öncül
LT: Uzun Süreli (Long Term)
MAPK: Mitojen Aktive Kinaz
MDS: Myelodisplastik Sendrom
MEP: Megakaryosit-Eritrosit Öncülü
MKH: Mezenkimal Kök Hücre
MMP-9: Matriks Metalloproteinaz-9
MPN: Myeloproliferatif Neoplazi
MPP: Multipotent Öncül
NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NHL: Non-Hodgkin Lenfoma
NK: Doğal Öldürücü

NİM: Nakil İlişkili Mortalite
PI3K: Fosfatidil İnositol 3-Kinaz
PTH: Parathormon
RANKL: Nükleer Faktör κ B Ligandın Reseptör Aktivatörü
RAR: Retinoik Asit Reseptörü
RIC: Azaltılmış Yoğunlukta Rejim
RNA: Ribo Nükleik Asit
RXR: Retinoid X Reseptörü
SCF: Kök Hücre Faktörü
SDF-1: Stroma Kaynaklı Faktör-1
ST: Kısa Süreli (Short Term)
TMNC: Total Mononükleer Hücre
TNC: Total Nükleuslu Hücre
TNF: Tümör Nekroz Faktörü
TPO: Trombopoietin
TRALI: Transfüzyon İlişkili Akut Karaciğer Hasarı
TBI: Tüm Beden Işınlaması
UV: Ultraviyole
VCAM-1: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü 1
VDR: Vitamin D Reseptörü
VDRE: Vitamin D Yanıt Elemanları
VKİ: Vücut Kitle İndeksi
VLA-4: Very Late Antigen-4
VLDL: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa Numarası:

Tablo 1.	Hematopoietik Kök Hücre Kaynaklarının Olumlu ve Olumsuz Yönleri.....	20
Tablo 2.	Kök Hücre Vericilerinin Genel Özellikleri.....	52
Tablo 3.	Çevre Kanı CD34 ⁺ Hücre Sayısı.....	53
Tablo 4.	İlk Aferez Günü Ürün CD34 ⁺ Hücre Sayısı.....	54
Tablo 5.	Toplam Üründeki CD34 ⁺ Hücre Sayısı.....	54
Tablo 6.	Aferez Sonuçları.....	55
Tablo 7.	Vericilerdeki D Vitamini Düzeylerinin Gruplandırılması.....	56
Tablo 8.	Donör ve Aferez Verilerinin Ortanca Değerleri [Ortanca(Aralık)].....	56
Tablo 9.	Ortanca Değerlerin [Ortanca(Aralık)] Kadın ve Erkek Vericiler Arasında Karşılaştırmalı Değerlendirmesi.....	58
Tablo 10.	Korelasyon Analiz Sonuçları.....	59
Tablo 11.	Düşük ve Yüksek Vitamin D Gruplarının Karşılaştırmalı Değerlendirmesi.....	63
Tablo 12.	Düşük ve Yüksek İlk Ürün CD34 ⁺ Hücre Gruplarının Karşılaştırmalı Değerlendirmesi.....	67

Tablo 13.	Verici Yaşı Alt Gruplarının Karşılaştırmalı Değerlendirmesi.....	69
Tablo 14.	C-Reaktif Protein Alt Gruplarının Karşılaştırmalı Değerlendirmesi.....	70
Tablo 15.	Transferrin Saturasyonu Alt Gruplarının Karşılaştırmalı Değerlendirmesi.....	71
Tablo 16.	Düşük ve Yüksek Ferritin Gruplarının Karşılaştırmalı Değerlendirmesi.....	74
Tablo 17.	Vücut Kitle İndeksi Alt Gruplarının Karşılaştırmalı Değerlendirmesi.....	75

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa Numarası:

Şekil 1.	Kök Hücre Bölünmesi.....	5
Şekil 2.	Hematopoietik Sistemin Hiyerarşik Organizasyonu.....	10
Şekil 3.	Kemik İliğindeki Hematopoietik Kök Hücre Nişleri.....	13
Şekil 4.	Türkiye Erişkin Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli Endikasyonları.....	23
Şekil 5.	D Vitamininin Hematopoietik Kök Hücreye Etkisi.....	41
Şekil 6.	D Vitamini Sinyal Yolakları.....	42
Şekil 7.	Hematopoietik Kök Hücre Mikroçevresinin Nöronal Düzenlenmesinde Vitamin D Reseptörünün Rolü.....	45
Şekil 8.	Düşük ve Yüksek D Vitamini Gruplarında Çevre Kanı CD34 ⁺ Hücre Sayılarının Karşılaştırılması.....	62
Şekil 9.	Düşük ve Yüksek D Vitamini Gruplarının Transferrin Saturasyonu Açısından Karşılaştırılması.....	63
Şekil 10.	Vitamin D Düzeyi Alt Gruplarında Ürün CD3 ⁺ Hücre Sayılarının Karşılaştırılması.....	64
Şekil 11.	Vitamin D Düzeyi Alt Gruplarında Vücut Kitle İndeksinin Karşılaştırılması.....	65

Şekil 12.	Çevre Kanı CD34 ⁺ Hücre Gruplarının Vitamin D Düzeyleri Açısından Karşılaştırılması.....	66
Şekil 13.	Düşük ve Yüksek Ferritin Alt Gruplarında D Vitamini Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	73
Şekil 14.	Vitamin B12 Alt Gruplarında Hücre Canlılık Oranlarının Karşılaştırılması.....	76
Şekil 15.	Düşük ve Yüksek Fosfor Gruplarında Ürün CD3 ⁺ Hücre Sayılarının Karşılaştırılması.....	77

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Allojeneik hematopoietik kök hücre nakli (AKHN), sağlıklı vericiden toplanan hematopoietik kök hücrelerin venöz yolla hastaya infüze edilmesidir. Günümüzde birçok hematolojik hastalığın yanı sıra; immün yetmezlikler, metabolik hastalıklar ve solid tümörler gibi hematolojik olmayan hastalıklar için de şifa sağlayıcı bir tedavi seçeneğidir. Hematopoietik kök hücreler (HKH) kemik iliği, çevre kanı veya umbilikal kord kanından elde edilebilmektedir. Erişkin hastalarda son yıllarda HKH kaynağı olarak en sık çevre kanı tercih edilmektedir (1-3).

Hematopoietik kök hücreler akım sitometri analizinde CD34 yüzey antijeni ile tanınırlar. Normal koşullarda çevre kanında az sayıda CD34⁺ kök hücre bulunmaktadır. Bu nedenle hematopoietik öncül hücrelerin kemik iliğinden çevre kanına geçişini artırmak amacıyla mobilizasyon (harekete geçirme) rejimleri uygulanmaktadır. Öte yandan, bazı vericilerde standart mobilizasyon rejimleriyle yeterli sayıda kök hücre elde edilememektedir. Yapılan çalışmalarda hedeflenen CD34⁺ kök hücre ürün miktarı için farklı eşik değerler kullanılmakla birlikte, %2-5 vericide genellikle en alt sınır olarak kabul edilen $2 \times 10^6/\text{kg}$ CD34⁺ hücre değerine dahi ulaşamamaktadır (4-7).

Yetersiz kök hücre infüzyonu, nakil sonrası hematopoietik yeniden yapılanmayı olumsuz etkilemekte, engraftman gecikmesi ve graft yetmezliğine neden olabilmekte ve nakil ilişkili mortalite (NİM) riskini artırmaktadır (4, 7, 8). Artan granülosit-koloni stimüle edici faktör (G-CSF) kullanımı ve aferez işlem sayısı vericideki yan etki riskini yükseltmektedir (8-10). Bu durumlar göz önüne

alındığında, uygun vericinin seçimi ve kök hücre mobilizasyon başarısını artıracak uygulamaların belirlenmesi günümüzde halen önem arz etmektedir (4, 8, 9, 11).

D vitamini insanlarda güneş ışığı ve kısmen de diyetle elde edilebilen, birçok farklı fizyolojik fonksiyonda görev alan bir steroid hormondur. Eksikliği Türkiye’de ve tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir (12-15). Aktif D vitamini 1,25-dihidroksivitamin D₃ [1,25-(OH)₂D₃] vitamin D reseptörüne (VDR) bağlanarak etki gösterir. Hematopoietik öncül ve olgun hücrelerde de VDR’nin bulunduğu gösterilmiş; D vitamininin immün regülasyonda ve monosit-makrofaj farklılaşmasında rol aldığı, antijen sunumunu düzenlediği tespit edilmiştir. Ayrıca D vitamininin anti-lösemik etkileri nedeniyle hematolojik malignansilerin tedavisindeki olası rolü de araştırılmıştır (16-19). Allojeneik kök hücre nakli (KHN) yapılan hastalarda ise, nakil öncesindeki D vitamini eksikliği kronik graft-versus-host hastalığı (GVHH) ve enfeksiyon gelişimiyle ilişkili bulunmuştur (20, 21). Ek olarak, alıcı ve vericideki VDR gen polimorfizmlerinin nakil sonrası sağkalım ve GVHH oranlarını değiştirebildiği sonucuna ulaşılmıştır (22, 23).

Hematopoietik kök hücreler, içinde bulundukları mikroçevre (niş) ile yakın etkileşim halindedir. D vitamininin bu mikroçevreyi oluşturan faktörler ve hücrelerle ilişkisi ve kalsiyumun HKH davranışı üzerindeki olası etkisi göz önüne alınarak son yıllarda yapılmış in vitro çalışmalar ve hayvan deneyleri bulunmaktadır (24, 25). Bu çalışmalarda, HKH’lerin G-CSF aracılı mobilizasyonundaki mekanizmalardan birinin beta 2 - adrenerjik reseptörlerin

uyarılarak osteoblastların baskılanması olduğu belirtilmiş; VDR'den yoksun farelerde osteoblast baskılanmasının ve kök hücre mobilizasyonunun bozulduğu öne sürülmüştür (24). Ayrıca, aktif D vitamininin kalsiyumdan bağımsız olarak embriyonik HKH proliferasyonunu artırdığı gösterilmiştir (25). Ancak günümüzde, vitamin D düzeyinin kök hücre mobilizasyonu üzerine olan olası etkisi ile ilişkili yeterli kanıt bulunmamaktadır.

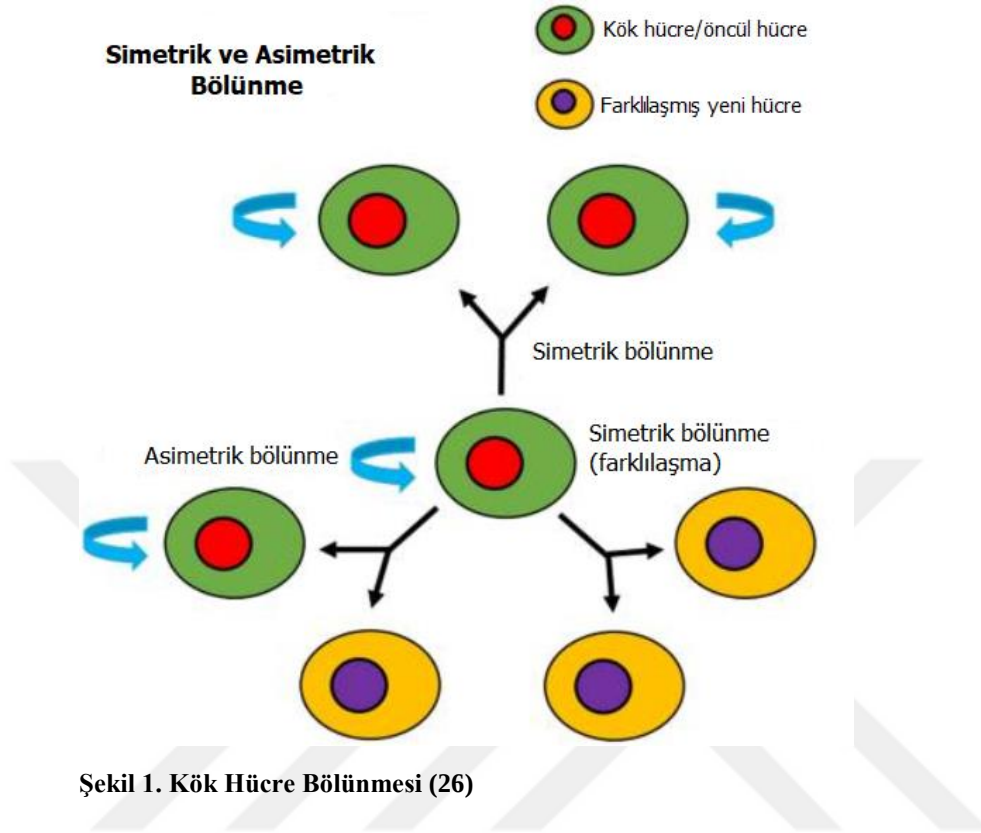
Bu tez çalışmasında, sağlıklı allojeneik kök hücre vericilerinde mobilizasyon öncesi serum D vitamini düzeyinin, HKH mobilizasyonu üzerine olan olası etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır; vericideki D vitamini düzeyi ile çevre kanı ve ürün CD34⁺ kök hücre sayısı arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığının belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kök Hücre ve Hematopoez

2.1.1. Kök Hücreler

Kök hücreler fonksiyonel olarak farklılaşmamış, uzun dönem kendini yenileyebilen ve gerektiğinde daha özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilen hücrelerdir. Kendini yenileme (*self renewal*) durumunda kök hücrelerin sayılarının korunması amaçlanır. Kök hücrelerde iki farklı bölünme şekli karşımıza çıkabilir. Simetrik bölünme ile kendi kendini yenileyerek sayılarını artırabilir veya birbirleriyle özdeş (*identik*) iki farklılaşmış hücre oluşturabilirler. Asimetrik bölünme durumunda ise hem kaynaklandığı hücreyle özdeş bir kök hücre, hem de farklılaşmış yeni bir hücre meydana gelir (Şekil 1). Hücrenin hangi bölünme paternine yöneleceğini gelişimsel ve çevresel sinyaller belirler; bu denge hastalık durumlarında değişebilir. Kök hücrelerin yüksek telomeraz enzim aktivitesine sahip olması, kromozomlarının ucunda bulunan telomerlerin kısalmasını önlemekte ve bölünme kapasitelerinin idamesini sağlamaktadır (26-28).



Kök hücreler farklılaşma kapasitelerine göre totipotent, pluripotent ve multipotent olmak üzere üç grupta incelenirler.

Totipotent kök hücreler, ekstraembriyonik dokular da dahil olmak üzere organizmanın tüm dokularını oluşturabilme kapasitesine ve sınırsız farklılaşma yeteneğine sahip hücrelerdir. Erken embriyonik dönemde, fertilize olmuş yumurtadan 8 hücreli embriyo oluşumuna kadarki süreçte yer alırlar (29-31).

Embriyoda ilk üç bölünmeyi takip eden dönemde blastomerlerde hücresel polarizasyon ve asimetrik bölünme başlar. Bunun sonucunda blastokist oluşumu gözlenir. İnsan embriyonel kök hücreleri pluripotent özelliktedir ve blastokistin iç hücre kitlesinden elde edilirler. Pluripotent hücreler her üç germ yaprağı (endoderm, ektoderm ve mezoderm) hücrelerine dönüşebilirler, ancak trofoblast

oluşturamazlar. Embriyonik kök hücrelerin keşfinden bu yana rejeneratif tıpta ve doku tamirinde kullanımlarına yönelik büyük ilgi oluşmuş fakat bununla birlikte in vivo çalışmalarda embriyonik kök hücrelerin implantasyonu takiben kendiliğinden farklılaşması ve teratom oluşturması gibi etik sorunlarla karşılaşmıştır (26, 29, 32).

Multipotent kök hücreler sınırlı sayıda hücreye farklılaşma potansiyeli olan hücrelerdir ve sadece bir germ tabakasındaki hücrelere dönüşebilirler. Multipotent hücreler gelişimin ilerleyen dönemlerinde kemik iliği, kas, yağ dokusu gibi çeşitli dokularda varlıklarını devam ettirirler. Erişkin somatik kök hücreleri multipotent hücrelerdir. Doku devamlılığında ve doku hasarına karşı oluşan cevapta rol alırlar. Hematopoietik kök hücreler de bu grupta yer alır (32-36). Hematopoietik multipotent kök hücreler özelleşmiş kan hücrelerine dönüşme potansiyeline sahiptir (32, 34-36).

Takahashi ve arkadaşlarının 2006 yılında yayınlanan çalışmasıyla “uyarılmış pluripotent kök hücre” kavramı ortaya çıkmış; somatik hücrelere pluripotensi genlerinin (OCT3/4, SOX2, c-MYC ve KLF4) aktarılması yoluyla blastokist aşaması gerekmeksizin pluripotent hücre üretimi sağlanmıştır (37).

Plastisite ve transdiferansiasyon terimlerinin gelişmesiyle beraber kök hücrelerin uygun uyaran ve mikroçevre koşullarında kendini tekrar programlayabildiği ve farklı doku hücrelerine dönüşebildiği öne sürülmüştür. Hematopoietik kök hücrelerin hepatositlere veya epitelial hücrelere dönüşebilmesi bu duruma örnek olarak gösterilebilir (38-40). Sonraki yıllarda

yapılan bazı çalışmalarda bu durumun kök hücrelerin diğer hücrelerle füzyonu sonucu oluşmuş olabileceği, bu nedenle farklılaşmayı taklit etmiş olabileceği ifade edilmiştir. Çelişkili sonuçlar çalışmalardaki teknik farklılıklara bağlanabilmekle birlikte bu konuda yeterli kanıt henüz elde edilememiştir (41, 42).

2.1.2. Hematopoietik Kök Hücre ve Hematopoez

Hematopoietik kök hücreler, üzerinde en fazla çalışmanın yapıldığı ve tedavide de yaygın kullanım alanına sahip erişkin multipotent kök hücrelerdir. Kendini yenileyerek kök hücre havuzunu koruyabilir; ayrıca eritrosit, lökosit ve plateletleri oluşturacak olan progenitör hücrelere farklılaşabilirler. Hematopoietik kök hücreler KHN’de graft-versus-tümör etkisini artırmak amacıyla, immun tolerans indüksiyonunda, gen tedavisinde ve rejeneratif tıpta kullanılır (35, 43-45).

Hematopoietik kök hücreleri ve progenitör hücreleri tanımlamada çeşitli yüzey antijenleri belirteç olarak kullanılmaktadır. Bu yüzey belirteçlerinden en iyi bilineni CD34’tür. CD34 antijeni, erken progenitör hücrelerde bulunurken daha olgun hücrelerde bulunmamaktadır. CD38 antijeni ise farklılaşmış progenitör hücrelerde ve olgun hücrelerde ifade edilmektedir, HKH’lerde CD38 ifadelenmesine rastlanmaz. İnsan HKH’si CD34⁺ CD38⁻’dir. Hematopoietik kök hücre CD34⁺ CD38⁻ CD90⁺ iken, multipotent progenitör hücreler CD34⁺ CD38⁻ CD90⁻’dir (35, 46).

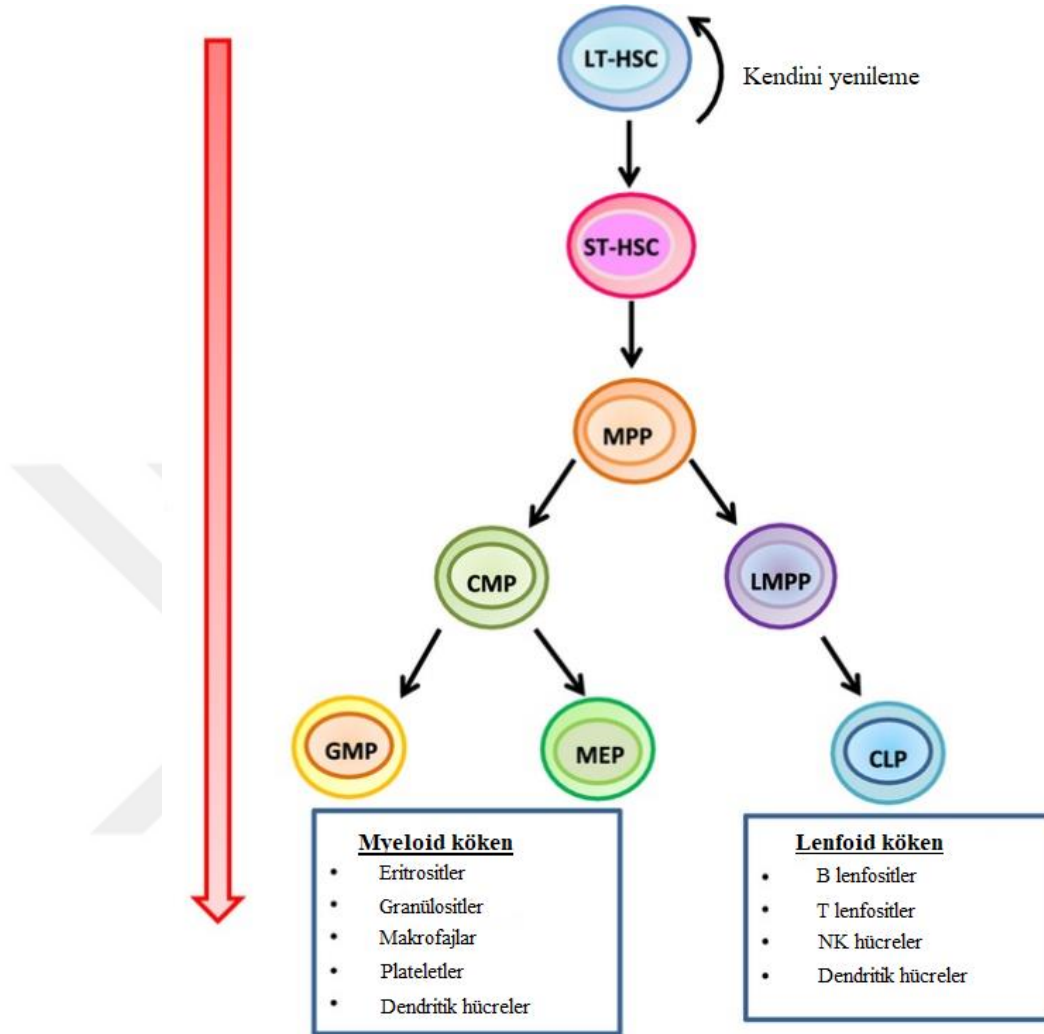
Kemik iliği muazzam bir üretim kapasitesine sahiptir. Kemik iliğinde kararlı durumda günlük 5×10^{10} – 10×10^{10} nötrofil üretildiği tahmin edilmektedir ve ihtiyaç halinde bu sayı daha da artmaktadır (47). Eritrosit üretimi ise saatte 10^{10} hücre dolayındadır (48). Kemik iliği hücre havuzuna bakıldığında, kök hücreler ve progenitör hücrelerin bu havuzun küçük bir kısmını oluşturduğu görülmektedir. Bununla birlikte, HKH'lerin bölünme ve kendini yenileme kapasitesinin sınırsız olmadığı gösterilmiştir. Bu durum yıllar içinde biriken deoksiribonükleik asit (DNA) hasarından kaynaklanıyor olabilir (35, 49).

Hematopoez olarak adlandırılan olgun kan hücrelerinin oluşum süreci, çeşitli büyüme faktörlerinin kontrolü altındadır. Hematopoietik büyüme faktörleri kalabalık bir sitokin ailesidir. Bu sitokinler içinde ilk olarak eritropoietin (EPO) tanımlanmış, ilerleyen yıllarda G-CSF ve granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktörün de (GM-CSF) hematopoietik hücre üretiminde uyarıcı olarak klinik kullanıma girmesiyle birlikte birçok hastalığın tedavisinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir (35, 50, 51).

Hematopoez, embriyonik dönemde ilk olarak vitellüs kesesinde başlar ve daha sonra aorta-gonad-mezonefroz bölgesi, plasenta, fetal karaciğer, dalak ve kemik iliği bu görevi üstlenir. Hematopoietik kök hücrelerin farklılaşıp olgun hücreleri oluşturmaya başlaması ilk olarak fetal karaciğerde görülür. Doğumun gerçekleşmesi ile birlikte HKH'ler kemik iliğine yerleşik olarak görevlerini yaşam boyu devam ettirirler. Postnatal dönemde normal şartlarda kemik iliği hematopoezin tek merkezidir (36, 52, 53). Doğum sonrası dönemde eritrosit ihtiyacının azalmasıyla birlikte üretim de azalmakta, kemik iliğindeki yağ oranı

artmaktadır. Erişkinlerde hematopoez bölgeleri kranium, sternum, kostalar, vertebra ve pelvis ile sınırlı kalmaktadır (54, 55). Primer myelofibrozis, lösemiler, lenfomalar, talasemi ve orak hücreli anemi gibi kemik iliğinin yetersiz kaldığı bazı durumlarda ise erişkinlerde vücudun farklı bölgelerinde kan hücrelerinin üretildiği görülmektedir, bu patolojik durum ilik dışı (*ekstramedüller*) hematopoez olarak adlandırılmaktadır (55-57).

Kök hücreden olgun kan hücrelerinin oluşumuna kadarki farklılaşma sürecini tanımlayan hematopoietik hiyerarşi, diğer kök hücre çalışmalarına da ışık tutmaktadır (Şekil 2).



Şekil 2. Hematopoietik Sistemin Hiyerarşik Organizasyonu (36)

LT-HSC: long-term (uzun süreli) hematopoietik kök hücre, ST-HSC: short-term (kısa süreli) hematopoietik kök hücre, MPP: multipotent öncül, CMP: ortak myeloid öncül, LMPP: lenfoid multipotent öncül, GMP: granülosit-makrofaj öncülü, MEP: megakaryosit-eritrosit öncülü, CLP: ortak lenfoid öncül. NK: doğal öldürücü.

Bahsedilen hiyerarşinin başlangıcında yer alan HKH'ler, "LT (*long term*)-hematopoietik kök hücre" ve "ST (*short term*)-hematopoietik kök hücre" şeklinde kategorize edilmiştir. *Long term-hematopoietik kök hücrelerin* daha uzun süre hematopoezi idame ettirme ve kendini yenileme kapasitesi olduğu belirtilmiştir (36, 58). Bu hücreler, önce ST-HKH'leri, daha sonra multipotent progenitör hücreleri, dizi (*lineage*)-sınırlı progenitörleri ve terminal farklılaşmış

hematopoetik hücreleri oluştururlar. Bu farklılaşma modelinde öncelikli ayrışmanın lenfoid ve myeloid progenitör hücrelerde olduğu görülmektedir. Bu model uzun yıllardır yaygın olarak kabul görmekle birlikte, son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda bu hiyerarşik modelin daha farklı olabileceği anlaşılmıştır. Lenfoid progenitörlerde gelişimin son basamağına kadar myeloid hücre oluşturma potansiyelinin bulunduğu öne sürülmüştür (59, 60).

Yüksek hücre döngülü progenitör hücrelerin aksine, kararlı durumdaki HKH'lerin önemli bir kısmı hücre döngüsünün G0 fazında sessiz olarak beklemektedirler. İstirahat fazında (G0) bulunan hücreler sitotoksik etkenlere karşı daha dirençlidir ve DNA hasarından korunabilirler. Stres veya ihtiyaç durumunda bu hücrelerin yeniden hücre siklusuna girebildikleri ve böylelikle hızlı çoğalma kapasitesine sahip oldukları bilinmektedir (35, 46, 58).

Hematopoietik kök hücrenin G0 fazından çıkma, farklılaşma, kendini yenileme gibi biyolojik davranışlardan hangisini sergileyeceğini içsel ve dışsal faktörler belirler. Farklı anatomik bölgelerdeki HKH'ler farklı karakteristik özellikler sergilemektedir (35, 52, 58, 61). Bu nedenle, bir HKH'nin gelişme sürecinde aşağıda belirtilen durumlardan herhangi birisi olabilir (60-63):

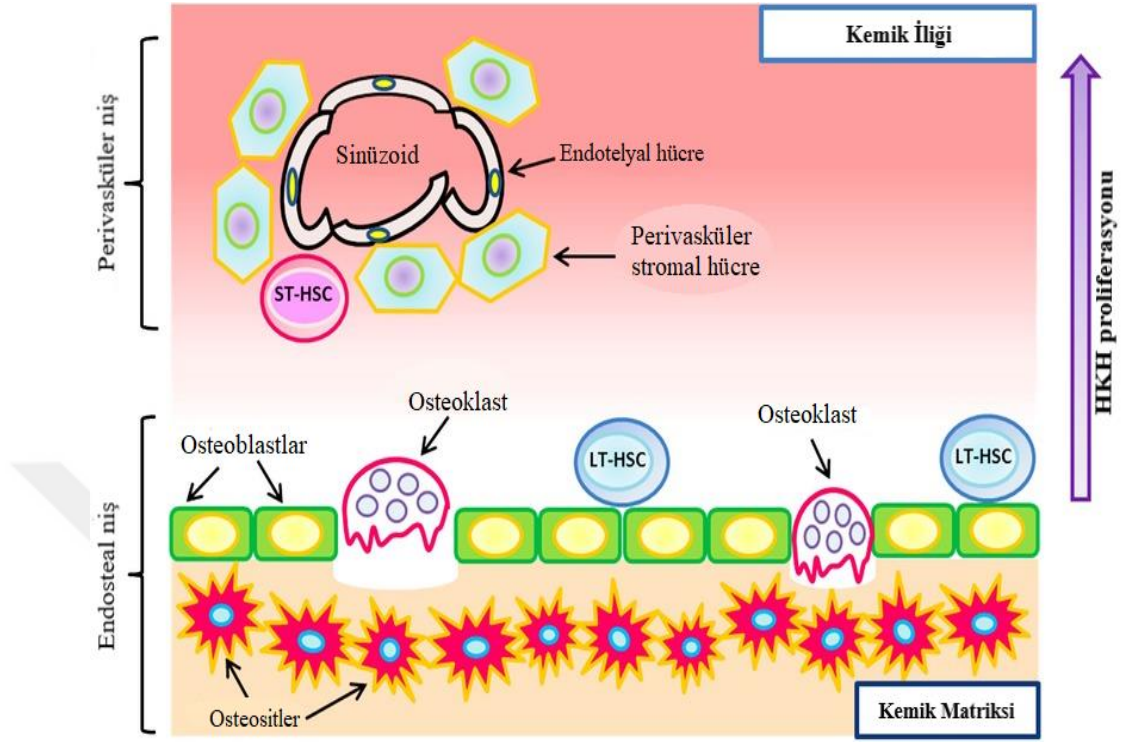
- İstirahatte kalma (G0, *dormant*)
- Kendini yenileme (*self renewal*)
- Farklılaşma
- Mobilizasyon (çevresel kan dolaşımına hareketi)

- Niş bölgesine yerleşme (*homing*)

- Apoptozis

2.1.3. Hematopoietik Kök Hücre Mikroçevresi (Niş)

Tüm kök hücreler kendini yenileme ve farklılaşma arasındaki dengeyi korumak zorundadır. Bir HKH'nin göstereceği biyolojik aktiviteyi belirlemede içinde bulunduğu çevre anahtar role sahiptir. *Hematopoietik kök hücre mikroçevresi (niş)*, HKH'lerin içinde bulunduğu, kök hücreyi dış etkenlerden koruyan ve çoğalma, farklılaşma, mobilizasyon, kemik iliğine yerleşme gibi biyolojik işlevlerini düzenleyen özelleşmiş bir yuvadır. Bu mikroçevre, mezenkimal kök hücreler, endotelial hücreler, osteoblastlar, adipositler, fibroblastlar, makrofajlar, sempatik sinir hücreleri ve diğer hücrelerin yanı sıra; hücre dışı matriks molekülleri, sitokinler, hormonlar, çözünür faktörler gibi hücrel olmayan birçok bileşenden oluşan dinamik ve karmaşık bir yapıdır (54, 61, 64, 65). Kemik iliğinde HKH fonksiyonunu farklı şekilde etkileyen iki farklı niş tanımlanmıştır (Şekil 3). *Endosteal niş*, kemik yüzeyine yakın kısımda, kemik-kemik iliği ara yüzeyinde yer alır. *Perivasküler niş*, kemik iliği kavitesinin merkezine yakın bölgesinde bulunmaktadır (36, 61, 66).



Şekil 3. Kemik İliğindeki Hematopoietik Kök Hücre Nişleri (36)

Yavaş döngülü LT-HKH'ler (*Long-term Hematopoietik Kök Hücre*) kemik-kemik iliği ara yüzündeki endosteal veya osteoblastik niş olarak bilinen alanda yer alırlar. Hızlı döngülü ST-HKH'ler (*Short Term-Hematopoietik Kök Hücre*) ise sinüzoidal endotelial hücrelere ve perivasküler hücrelere yakın yerleşimlidirler. Perivasküler niş olarak bilinen bu alan HKH'lerin proliferasyonunu ve farklılaşmasını destekler.

Endosteal niş osteoblastlardan zengin bir bölge olup, HKH'lerin çoğunluğunun hücre siklusuna girmeyip istirahatte kaldığı (G0) ve böylelikle dış etkenlerden, kemoterapötik ilaçların sitotoksitesinden korunduğu bir alan oluşturur. Perivasküler niş ise HKH'lerin çoğalma, farklılaşma ve göç olaylarının görüldüğü bir bölgedir (36, 61, 65). Yapılan çalışmalarda, HKH'lerin büyük çoğunluğunun perivasküler nişte bulunduğu saptanmıştır (65, 67, 68).

Kemik iliğindeki HKH mikroçevresinin fiziksel yapısının oluşumunda stromal hücreler önemli oranda yer almaktadır. Osteoblastlar, endotel hücreleri, fibroblastlar ve adipositler mezenkimal kök hücre (MKH) kaynaklıdır. Ayrıca

perivasküler stromal hücreler, CXCL12'den (*kemokin CXC ligand 12*) zengin retiküler (CAR) hücreler, nestin-pozitif MKH'ler ve leptin-reseptör pozitif stromal hücreler de bulunmaktadır (54, 63, 65, 68).

Mezenkimal kök hücreler, CAR hücreler, nöral hücreler ve endotelial hücreler perivasküler niş yapısında yer alır. Nestin⁺ MKH'ler yüksek oranda CXCL12, kök hücre faktörü (SCF), İnterlökin-7 (IL-7) ve vasküler hücre adezyon molekülü 1 (VCAM 1) salgılar. Kemokin CXC ligand 12'den zengin retiküler hücreler de benzer şekilde yüksek oranda CXCL12 ve SCF salgılamaktadır. Nestin⁺ MKH'ler adrenerjik sinir lifleriyle yakın ilişki içindedir ve adrenerjik sinyallerin CXCL12 üretimini inhibe ederek mobilizasyonu azalttığı gösterilmiştir (8, 54, 63, 66).

Hematopoietik kök hücre mikroçevresini oluşturan hücrelerden salınan moleküller HKH'lerin yüzeyindeki reseptörlere bağlanarak HKH'lerin istirahat halinde kalmasını ve toksik stresten korunmasını sağlar. Bu bağlantılara örnek olarak, CXCL12 ile CXCR4, VCAM-1 ile VLA4 (*very late antigen 4*), SCF ile c-kit, trombopoietin (TPO) ile MPL (TPO reseptörü), Ang1 ile Tie2 etkileşimleri gösterilebilir (8, 66, 69, 70). Bu etkileşimlerden CXCL12/CXCR4 ve VCAM-1/VLA4, HKH'lerin kemik iliğinde yerleşmesi (*homing*) için önemlidir. Kök hücre mobilizasyonu esnasında CXCL12/CXCR4 ve VCAM-1/VLA4 bağlantılarının kesintiye uğraması esas mekanizmalardan birini oluşturmaktadır (8, 35, 66, 71).

Kemik iliği miyelinli ve miyelinsiz sinir liflerinden zengin bir yapıya sahiptir. Sempatik sinir uçları osteoblast, osteoklast ve MKH'ler ile yakın ilişki halindedir. Perivasküler nişte sinir uçlarından sirkadyan noradrenalin salınımı perivasküler stromal hücrelerden CXCL12 salınımını azaltmaktadır. Bu durum HKH'lerin çevre kanına sirkadyan mobilizasyonuna neden olmaktadır (8, 35, 54).

Osteoblastlar endosteal nişin ana hücresidir ve hematopoietik mikroçevrenin öncül hücresi olarak kabul edilmektedir. Osteoblastlar HKH'lerin pozitif düzenleyicisi olarak tanımlanırken, adipositlerin HKH'leri olumsuz yönde etkilediği görülmüştür (36, 72, 73). Naveiras ve arkadaşları, kemik iliği adipogenezinin azaltılmasıyla HKH nakli sonrası hematopoietik iyileşmenin daha iyi düzeyde sağlanabileceğini göstermişlerdir (73). Osteoblastlar HKH'lerin endosteal niş alanına yerleşmesinde ve engraftmanında (kök hücrelerin kemik iliğine yerleşmesi ve kan hücrelerinin yapımının başlaması) etkili olan anjiyopoietin-1 ve CXCL12 gibi adezyon molekülleri salgırlar. Böylelikle osteoblastların HKH'lerin çevre kanına mobilizasyonunu olumsuz yönde etkiledikleri düşünülmektedir (66, 74). Osteoblastların HKH havuzuna diğer bir etkisi ise NOTCH (jagged-1 ile) ve Wnt sinyal yolları üzerindendir. Bu yolların desteklenmesi HKH'lerin kendini yenilemesini sağlarken, farklılaşmasını inhibe eder (35, 36, 74). Osteoblastlar HKH havuzu üzerine olumsuz yönde etki eden osteopontin de salgılamaktadır. Ayrıca G-CSF, GM-CSF ve lösemi inhibitör faktör (LIF) de sekrete edebilirler (36, 75, 76). Öte yandan, bazı çalışmalarda osteoblastların HKH'ler üzerine etkisinin kısıtlı olduğu öne sürülmüştür. Örneğin Kiel ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, trabeküler

kemik ve osteoblast sayısı az olan farelerde HKH havuzu ve fonksiyonlarının etkilenmediği gösterilmiştir (77). Başka bir çalışmada da, HKH devamlılığı için esas faktörlerden olan CXCL12 ve SCF'nin osteoblastlardan delesyonu sağlandığında HKH sayısının azalmadığı görülmüştür (78). Bu sonuçlar osteoblastların HKH'leri düzenlemedeki rolünü araştıran yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Hematopoietik kökenli hücreler olan ve endosteal nişte yer alan osteoklastların da HKH regülasyonunda rolü olduğu düşünülmektedir. Osteoklastların salgıladıkları proteolitik enzimlerle CXCL12 veya Kit ligand gibi adezyon faktörlerini ortadan kaldırarak kök hücre mobilizasyonunu destekleyebileceği öne sürülmüştür (36, 74, 79). Stres durumu esnasında osteoklastların hematopoietik öncül hücreleri aktive ettiği düşünülmektedir. Mobilizasyon üzerine etkisinin yanı sıra, bifosfonatlarla yapılan bir çalışmada osteoklast sayısı azaltıldığında HKH sayısının da azaldığı görülmüştür (80). Öte yandan, Takamatsu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise diğer verilerden farklı olarak, bifosfonat kullanımı sonrası G-CSF aracılı mobilizasyonda artış gözlenmiştir (81).

Kemiğin yapısındaki diğer hücrelerden olan osteositler üzerine yapılan az sayıda çalışma bulunmakla birlikte, bu hücrelerin Gs alfa bağımlı sinyal yolağı üzerinden myelopoezi düzenledikleri düşünülmektedir (36, 82). Ayrıca 2013 yılında yapılan bir çalışmada, osteositlerin ortamdan kaldırılması sonrası kemik iliğindeki HKH sayısında azalma olmadığı, ancak G-CSF aracılı HKH mobilizasyonunun bozulduğu görülmüştür (83).

Kemik yapısındaki hücrelerin oluşturduğu bu bağlantılar, kemik yapı ile kemik iliği hematopoezi arasında karşılıklı etkileşim ve yakın ilişki olduğu görüşünü desteklemektedir (36, 84, 85).

2.1.4. Hematopoietik Kök Hücre Kaynakları

2.1.4.1. Kemik İliği

Hematopoietik KHN’de ilk kullanılan kök hücre kaynağı kemik iliğidir. Kemik iliği kaynaklı kök hücreler ilk kez 1963 yılında E.D. Thomas tarafından tanımlanmıştır (86).

Kök hücre elde edilmesi için işlem yeri olarak genellikle bilateral posterior iliak krest tercih edilir. Ameliyathane koşullarında, spinal veya genel anestezi altında işlem yapılır. Kemik iliği kanı uygun enjektörlerle, ardışık tekrarlayan işlemlerle aspire edilir (3, 87).

Vericiden alınması önerilen kemik iliği miktarı 20 ml/kg (verici ağırlığı) olarak sınırlandırılmıştır. Genellikle 15-20 ml/kg (alıcı ağırlığı) örnek alınması hedeflenir. Elde edilmesi gerekli çekirdekli hücre sayısı alıcı ağırlığına göre 2×10^8 /kg olarak belirlenmiştir (3, 88, 89).

2.1.4.2. Çevre Kanı

Çevre kanı ilk kez 1981 yılında HKH kaynağı olarak tanımlanmıştır. Normal koşullarda çevre kanında az miktarda $CD34^+$ kök hücre bulunmaktadır.

Sağlıklı kişilerde CD34⁺ hücrelerin çevre kanındaki toplam çekirdekli hücrelerin %0,06'sını oluşturduğu saptanmıştır. Kemik iliğinde ise bu oran %1,1'dir (86).

Kök hücrelerin çevre kanına hareketinin sağlanması için sıklıkla G-CSF gibi büyüme faktörleri kullanılmaktadır. Büyüme faktörlerinin kök hücreleri kemik iliğinden çevre kanına göç ettirdiğinin saptanması ve aferez yöntemiyle bu hücrelerin kolaylıkla toplanabilmesi sonrasında çevre kanı erişkin hastalarda en sık kullanılan kök hücre kaynağı olmuştur (1-3, 86). Türkiye 2014 yılı verilerine bakıldığında da, erişkin yaş grubunda HKH nakillerinin %95'inde çevre kanının, %4,9'unda kemik iliğinin, %0,1'inde umbilikal kord kanının HKH kaynağı olarak kullanıldığı görülmektedir (2).

Genel anestezi gerektirmemesi, engraftman süresinin kemik iliği kaynaklı nakillere göre daha kısa olması, transfüzyon ihtiyacının daha az ve hastanede kalış süresinin daha kısa olması önemli avantajlarındandır (3, 10, 90-92). Bununla birlikte, kemik iliği nakline göre daha yüksek oranda kronik GVHH geliştiğini bildiren yayınlar olması nedeniyle özellikle çocuklarda ve erken evre hastalığı olanlarda kullanımı kısıtlanmaktadır (86, 90, 92, 93). İki kök hücre kaynağı arasında relaps gelişim riski açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır (10, 86, 92). Düşük riskli hastalığa sahip alıcılar için kök hücre kaynağına göre hastalıksız sağkalım sürelerinde farklılık saptanmamış olup, ileri evre malignitesi olan hastalara yapılan nakiller için çevre kanının kullanılmasının hastalıksız sağkalımı uzattığını gösteren çalışmalar mevcuttur (86, 92).

2.1.4.3. Umbilikal Kord (Kordon) Kanı

Yenidoğan bebeklerin kordon kanında HKH'lerin varlığının fark edilmesi sonrasında ilk kez 1988 yılında tedavi amaçlı kullanılmıştır (91). Özellikle pediatrik yaş grubunda alternatif HKH kaynağı olarak değerlendirilmektedir. Türkiye'deki 2014 yılı verilerine göre pediatrik yaş grubunda HKH nakillerinin %6,3'ünde umbilikal kord kanı tercih edilmiştir (2).

Kök hücreler doğumla birlikte umbilikal kord veya plasentadan klempleme sonrası elde edilebilmekte ve dondurularak uzun yıllar saklanabilmektedir (91, 94). Graft-versus-host hastalığı oranlarının düşük olması önemli bir avantajdır ve insan lökosit antijeni (HLA) uyumlu verici bulunamadığında alternatif kök hücre kaynağıdır. Umbilikal kord kanının en önemli dezavantajlarından biri, her kordon kanı ünitesinin kemik iliğinin 1/10'u kadar çekirdekli hücre içermesidir. Yetersiz hücre sayısı gecikmiş engraftmana neden olabilmektedir (91, 94, 95). Bu nedenle sıklıkla vücut ağırlığı düşük hastalar veya çocuk alıcılar için uygundur. Yetersiz hücre sayısını artırmak için birden fazla umbilikal kord ünitesi kullanılabilir. Bu konuda in vitro ekspansiyon gibi yeni yaklaşımların ortaya konulmasıyla kordon kanının erişkin hastalardaki kullanımı da yaygınlaşmaktadır (91, 96).

Hematopoietik kök hücre kaynaklarının olumlu ve olumsuz yönleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Hematopoietik Kök Hücre Kaynaklarının Olumlu ve Olumsuz Yönleri (3, 10, 86, 90-95)

	Kemik iliği	Çevre kanı	Umbilikal kord kanı
Olumlu yönleri	- G-CSF kullanımı gerekmemesi - Santral kateter gerekmemesi - Tek işlemle toplama yapılması - Çevre kanına göre daha nadir kronik GVHH görülmesi	- Genel anestezi gerekmemesi - Daha hızlı engraftman sağlanması - Ayaktan yapılabilmesi - Hastanede yatış süresinin kısa olması - İleri evre hastalarda kemik iliğine oranla uzamış sağkalım - Ağrı gibi komplikasyonların daha az görülmesi	- GVHH'nın çok nadir görülmesi ve doku grubu uyumsuz nakillerde kullanılabilmesi - Elde edilmesinin kolay olması, ek işlem gerektirmemesi - Uzun süre saklanabilmesi, acil durumlarda kullanılabilmesi
Olumsuz yönleri	- Genel anestezi - İnvaziv işlem - İşlem yerinde ağrı - Gecikmiş engraftman	- G-CSF ilişkili komplikasyonlar - Santral kateter gerekebilmesi - Aferez ilişkili komplikasyonlar - Toplama işleminin birkaç gün sürebilmesi - Kemik iliğine göre daha sık kronik GVHH görülmesi	- Sınırlı sayıda kök hücre elde edilmesi - Gecikmiş engraftman - Daha az deneyim - Maliyet

HKH: Hematopoietik kök hücre, GVHH: Graft-versus-host hastalığı

2.1.4.4. Embriyonik Kök Hücreler

Blastokistin iç hücre kitlesinden elde edilen ve her üç germ yaprağı hücrelerine dönüşebilen hücrelerdir. Özel hücre serisine dönüşebilen kök hücrelerin tespiti ve bu serinin karışık hücre popülasyonundan ayrılması konusunda yeterli veri olmaması klinik uygulamalar için engel teşkil etmektedir (26, 29, 32).

2.2. Hematopoietik Kök Hücre Nakli

Hematopoietik KHN, hematopoietik sistemin yeniden yapılanmasını sağlamak amacıyla kök hücrelerin hastanın kendisinden veya doku grubu uyumlu kişilerden toplanıp, hazırlama rejimini takiben hastaya verilmesi işlemidir. Günümüzde doğuştan veya kazanılmış, benign veya malign birçok hematolojik ve hematolojik olmayan hastalığın tedavisinde önemli ve şifa sağlayıcı bir tedavi seçeneği olarak yer almaktadır (1, 2, 97).

Avrupa Kan ve Kemik İliği Nakli Derneği (*European Society for Blood and Marrow Transplantation*) (EBMT) verilerine göre, 2016 yılında Avrupa’da 43.636 hematopoietik KHN yapılmış olup; bunların %58’ini otolog KHN, %42’sini AKHN oluşturmaktadır (1).

Otolog KHN, yüksek doz kemoterapi ve/veya radyoterapi içeren myeloablatif tedavi sonrası, hastanın kendisinden daha önce toplanıp saklanmış olan HKH’lerin hastaya geri verilmesidir. Genellikle standart doz tedavi ile kür elde edilemeyen, yüksek doz kemoterapi ile tedavi edilebilen malignitelerde kullanılır. Otolog KHN’nin verici gerektirmemesi, GVHH gelişmemesi ve AKHN’ye göre daha hızlı engraftman sağlanması gibi olumlu yönleri mevcuttur. Öte yandan, tümör hücreleriyle kontamine ürünün hastaya tekrar verilmesi ve AKHN’ye göre daha yüksek nüks oranlarının izlenmesi olumsuz yönleridir (98-100). Erişkinlerde otolog KHN’nin en sık üç endikasyonunu multipl myelom, non-Hodgkin lenfoma ve Hodgkin lenfoma oluşturmaktadır (1, 2, 99). Singeneik

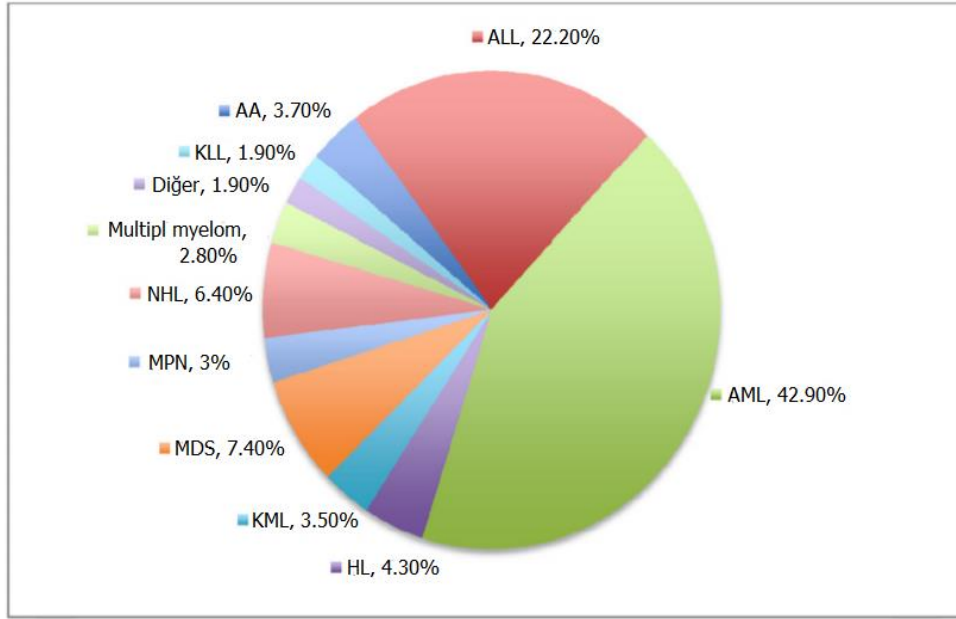
KHN, genetik yapısı aynı olan bireyler arasında yapılan KHN'dir. Tek yumurta ikizleri buna örnektir (98, 100).

2.3. Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli

2.3.1. Tanım ve Endikasyonlar

Allojeneik kök hücre nakli sağlıklı gönüllü vericiden alınan HKH'lerin hastaya verilmesi ve böylelikle alıcıda verici hematopoietik sisteminin yapılandırılmasıdır. Uzun süreli sağkalım ve şifa şansı sunmaktadır. Bununla birlikte, ciddi morbidite ve mortalitesi olan bir tedavi şekli olması nedeniyle nakil öncesi hastanın AHKN için uygunluğunun değerlendirilmesi, bilgilendirilmesi ve onamının alınması, uygun vericinin ve kök hücre kaynağının seçimi ve hastaya uygun hazırlık rejiminin verilmesi önem arz etmektedir (3, 90).

Günümüzde benign ve malign hematolojik hastalıkların yanı sıra; kemik iliği yetmezlik sendromları, immün yetmezlik durumları, solid tümörler ve metabolik hastalıkların tedavisinde kullanılabilmektedir (1, 2, 90, 97, 99). EBMT 2016 verilerine göre en sık kullanım endikasyonunu %38 ile akut myeloid lösemi (AML) oluşturmakta, bunu %16 ile akut lenfoblastik lösemi (ALL) takip etmektedir (1). Türkiye'deki 2014 yılı verilerine göre de, AML, ALL ve myelodisplastik sendrom (MDS) erişkinlerde AKHN endikasyonları arasında ilk üç sırayı oluşturmaktadır (Şekil 4). Pediatrik yaş grubunda ise, ALL (%21), talasemi (%20), AML (%11), primer immün yetmezlikler (%11) ve kemik iliği yetmezliği (%10) en sık AKHN endikasyonlarıdır (2).



Şekil 4. Türkiye Erişkin Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli Endikasyonları (2)

ALL: akut lenfoblastik lösemi, AA: aplastik anemi, KLL: kronik lenfositik lösemi, NHL: non-Hodgkin lenfoma, MPN: myeloproliferatif neoplaziler, MDS: myelodisplastik sendrom, KML: kronik myeloid lösemi, HL: Hodgkin lenfoma, AML: akut myeloid lösemi.

2.3.2. Hazırlama Rejimleri

Allojeneik KHN öncesi hastalara hazırlama rejimi uygulanır. Amacı, tümör yükünü azaltmak ve alıcının immün sistemini baskılamak suretiyle verici kök hücrelerinin yerleşmesine ve engraftmanına uygun ortam yaratmaktır (10, 99-101). Engraftmanı belirlemede mutlak nötrofil sayısı için $0,5 \times 10^9/L$ ve trombosit sayısı için $20 \times 10^9/L$ eşik değerleri esas alınmaktadır (10, 102).

Hazırlama rejimleri yoğunluğuna göre myeloablatif, myeloablatif olmayan ve azaltılmış yoğunlukta rejimler şeklinde sınıflandırılmaktadır (101, 103-105).

Myeloablatif rejimlerde tüm beden ışınlaması (TBI) ve/veya yüksek doz alkileyici ajanlar kullanılır. Maksimum myelosupresyon ve immünsupresyon

sağlanarak altta yatan hastalığa ait rezidü hücreleri olabildiğince yok etmek ve immün aracılı başarısızlığı azaltmak hedeflenir. Bu rejim sonrasında KHN yapılmadığı takdirde normal kemik iliği fonksiyonu sağlanamaz (101, 104, 105).

Myeloablatif rejimlerin özellikle 50 yaş üstü ve performans durumu kötü olan hastalarda yüksek toksisite nedeniyle mortaliteyi artırması üzerine, özellikle yaşlı hasta grubu için myeloablatif olmayan rejimlerin kullanımı gündeme gelmiştir. Myeloablatif olmayan rejimler hafif düzeyde sitopeniye neden olan ve kök hücre desteği gerektirmeyen rejimler olarak tanımlanmıştır. Fludarabin ve siklofosfamid, 2 Gy'den az dozda TBI, anti-timosit globülin (ATG) içeren tedaviler myeloablatif olmayan rejimlere örnektir (101, 103, 105).

Azaltılmış yoğunlukta rejimler (*reduced intensity conditioning*) (RIC), myeloablatif ve myeloablatif olmayan tedavi sınıfına girmeyen ara gruptur. Myeloablatif olmayan rejimden farkı uzamış sitopeniye neden olabilmesi ve kök hücre desteği gerektirmesidir. Myeloablatif rejimlere göre alkilleyici ajanların veya TBI'nın dozu en az %30 azaltılmıştır (101, 105).

2.3.3. Uygun Vericinin Seçimi

Nakil başarısını etkileyen en önemli faktör alıcı ve verici arasındaki doku uyumudur. Doku uyumunun esas belirleyicisi HLA proteinlerini kodlayan genlerin benzerliğidir (90, 99, 106, 107). İkincil olarak, kan grubu gibi ek genetik faktörler ve sitomegalovirüs (CMV) enfeksiyon varlığı gibi genetik olmayan faktörlerin de doku uyumuna etkisinin olabileceği belirtilmiştir (106). İnsan

lökosit antijeni proteinleri hücrelerin yüzeyinde bulunan ve yabancı antijenlere karşı geliştirilen immün yanıtta rol oynayan proteinlerdir. Allojeneik KHN'deki doku uyumsuzluğunda hastanın allo-reaktif hücreleri vericiye ait yabancı antijenlere karşı immün yanıt başlatabilmekte ve bu durum engraftman başarısızlığına neden olabilmektedir. Nakil öncesi hazırlık rejimlerinin amaçlarından biri de istenmeyen bu durumu önlemektir. Öte yandan, vericinin immün sistem hücreleri alıcının dokularındaki yabancı antijenlere karşı yanıt geliştirebilmekte ve bu durum akut GVHH gelişimine yol açabilmektedir (99, 100, 106, 107).

Allojeneik KHN tam uyumlu kardeş, akraba ya da akraba dışı vericiden yapılabilir. Doku uyumunda en önemli HLA bölgeleri sınıf I HLA-A, HLA-B, HLA-C ve sınıf II HLA-DRB1 ve HLA-DQB1 olarak belirlenmiştir (90, 106-109). Bu allellerin 10/10 eşleşmesi (tam uyum) AKHN için altın standarttır. Allojeneik KHN için ilk seçenek naklin tam uyumlu kardeşten yapılmasıdır. Bir hasta için HLA tam uyumlu kardeş bulunma olasılığının %30 civarında olduğu tahmin edilmektedir (99, 106, 107). Gelişmiş ülkelerde kardeş sayısının az olması nedeniyle bu oran daha da düşmektedir. Tam uyumlu kardeş veya akraba verici bulunamadığında tek antijen uyumsuz (9/10 uyumlu) kardeş veya akraba verici tercih edilebilmektedir (106, 110). Valcárcel ve arkadaşlarının çalışmasında, tam uyumlu akraba dışı verici ve 9/10 uyumlu akraba vericiden yapılan nakiller kıyaslandığında; sağkalım, nüks ve III-IV. derece akut GVHH açısından anlamlı farklılık olmadığı saptanmış, kronik GVHH oranlarının ise tek antijen uyumsuz akraba vericiden yapılan nakillerde daha düşük olduğu görülmüştür (110). Uygun

akraba dışı verici bulunamadığında, kordon kanı nakilleri veya aile bireylerinden yapılan haploidentik nakiller (en az 2 HLA lokusunda uyumsuzluk olan nakiller) gündeme gelebilmektedir (100, 106, 107, 111). Allojeneik KHN EBMT 2016 verilerine göre Avrupa’da en sık akraba dışı vericilerden, Türkiye’de ise 2014 verilerine göre en sık tam uyumlu akraba vericiden yapılmaktadır (1, 2).

Verici seçiminde ilk basamaklardan biri hastanın hastalık durumunun belirlenmesidir. Yavaş seyirli hastalığı olanlarda tam uyumlu akraba veya akraba dışı verici bulunana kadar gerekirse naklin ertelenmesi gündeme gelebilir. Agresif seyirli hastalıklarda ise nakil zamanlaması hasta için kritik öneme sahiptir (106, 107, 112).

Birden fazla doku grubu uyumlu verici olduğu durumlarda genellikle vericinin gönüllülük durumu, yaşı, cinsiyeti, ABO kan grubu, ırkı, kilosunu, CMV serolojisi gibi özellikleri değerlendirilip uygun verici seçilmektedir (106, 108).

Alıcı ve verici arasındaki kan grubu uyumsuzluğu majör, minör veya çift yönlü (biri A kan grubu iken diğeri B) olabilir. Majör kan grubu uyumsuzluğundan kaçınılması önerilir. Ancak kan grubu uyumlu veya minör uyumsuz verici bulunamazsa majör uyumsuz vericiden nakil yapılabilir (106, 113, 114). Sitomegalovirüs serolojisi açısından bakıldığında, en iyi nakil sonuçlarının alıcı ve vericinin serolojisinin aynı olduğu durumlarda (ikisi de pozitif veya ikisi de negatif) elde edildiği saptanmıştır (106, 115). Vericinin cinsiyet, parite ve ırk durumunu değerlendiren çalışmalarda birbiriyle çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Erkek vericiyle yapılan AKHN’lerde sağkalımın daha uzun olduğunu gösteren

alışmalar mevcuttur; bu duruma erkek vericilerden elde edilen HKH sayısının daha yüksek olmasının ve multipar kadın vericilerle yapılan AKHN’lerde GVHH oranlarının daha yüksek olmasının neden olabileceği öne sürülmüştür (106, 116, 117). Bazı çalışmalarda ise nakil sonuçları benzer bulunmuştur (118, 119). İngiliz Doku Uyumu ve İmmünogenetik Derneği (*British Society for Histocompatibility and Immunogenetics*) (BSHI) 2016 kılavuzunda birden fazla uygun verici varlığında erkek vericinin tercih edilmesi nerilmiştr (106). Verici yaşınnın nakil sonuçlarına etkisi ile ilgili olarak, genç yaştaki vericilerden yapılan nakillerde GVHH oranlarının daha düşük olduğu ve sağkalımın daha uzun olduğunu gösteren çalışmalar yayınlanmıştır. Bu nedenle birden fazla uygun verici varlığında genç vericinin öncelikli tercih edilmesi önerilmektedir (106, 117, 120).

Daha önce hepatit B enfeksiyonu geçirip doğal bağışıklık oluşturan kişilerin verici olmasında sakınca yoktur, hatta bu durum alıcıda aktif hepatit B enfeksiyonu varlığında immüniteyi destekleyebilmektedir. Başka uygun verici yoksa hepatit B yüzey antijeni pozitif olan kişiler de alıcıya antiviral profilaksi verilmek koşuluyla verici olabilir (3, 121, 122). Vericide hepatit C pozitifliği nakil için kısmi kontrendikasyon oluşturur (3, 123). Epstein-Barr ve varisella zoster virüs varlığı kişinin verici olmasına engel olmaz, fakat alıcının profilaksi veya yakın izlem yönünden değerlendirilmesini gerektirir (3, 124, 125). Orak hücreli anemi taşıyıcıları ve talasemi taşıyıcılarının da verici olmasında engel yoktur (3, 125, 126). Otoimmün hastalığı olan kişilerin ise verici olması uygun değildir. Granülosit-koloni stimüle edici faktör uygulaması sonrası otoimmün hastalığa ait

semptomların kötüleşebileceği bildirilmiştir. Ayrıca hastalığın alıcıya geçme riski de mevcuttur (3, 125).

2.3.4. Verici Çevre Kanından Kök Hücre Toplanması

2.3.4.1. Mobilizasyon İşlemi

Çevre kanında normal koşullarda KHN için yeterli sayıda $CD34^+$ kök hücre bulunmadığından, HKH'lerin kemik iliğinden çevre kanına geçişini sağlamak gerekmektedir. Bu işleme mobilizasyon (harekete geçirme) denmektedir. Sağlıklı vericilerde bu amaçla tek başına G-CSF kullanılmaktadır. Granülosit-koloni stimüle edici faktör, yan etkilerinin daha nadir görülmesi ve daha yüksek mobilizasyon etkinliği nedeniyle GM-CSF'ye tercih edilmektedir (11, 66, 127, 128). Granülosit-koloni stimüle edici faktör 4-6 gün boyunca verici ağırlığına göre günlük 10-16 mcg/kg dozunda cilt altı uygulanmaktadır. Günlük doz tek seferde veya ikiye bölünerek verilebilir (3, 66, 127, 128). En sık kullanılan dozu 10 mcg/kg/gün şeklindedir (5, 66, 128, 129).

Çevre kanı HKH'leri, G-CSF uygulamasının 4. veya 5. gününde, sürekli akım hücre ayraçları kullanılarak toplanır. Yeterli HKH elde edilene kadar birkaç aferez seansı uygulanabilir (10, 11). İdeal kök hücre toplama gününün belirlenebilmesi için aferez öncesi çevre kanında akım sitometrik yöntemle $CD34^+$ kök hücre sayısı ölçülür. İlk yıllarda G-CSF sonrası mobilizasyon başarısını tahmin etmek için aferez öncesi beyaz küre sayısı kullanılırken, sonraki yıllarda ürün $CD34^+$ hücre sayısı ile aferez öncesi çevre kanı $CD34^+$ hücre sayısı arasında

güçlü bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (9, 11, 130-134). Çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı 20/mcL üzeri olduğunda, ertesi gün tek seansta %94 vericide $2 \times 10^6/\text{kg}$ CD34⁺ üzeri hücre sayısına ulaşılmıştır (131). Aferez işlemi başlatılması için ise, çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı eşik değeri çoğunlukla 10/mcL kabul edilmektedir (134-136). Yu ve arkadaşlarının çalışmasında çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı 10/mcL'nin altındayken ortanca ürün CD34⁺ hücre sayısı $0,75 \times 10^6/\text{kg}$ bulunmuş, bu nedenle bu değerin altında aferez işlemine başlanmaması önerilmiştir (136). Çevre kanında maksimum CD34⁺ hücre sayısına 4-5. G-CSF günlerinde ulaşılmaktadır (9, 11, 127, 137).

2.3.4.2. Granülosit-Koloni Stimüle Edici Faktör Etki Mekanizması

İlk klinik çalışmalarda nötrofil sayısını artırmak için kullanılırken, sonrasında hematopoietik öncül hücrelerin de çevre kanında yaklaşık 100 kat artmasını sağladığı tespit edilmiştir (8, 138). Mobilizasyonu birden fazla etki mekanizması üzerinden desteklediği düşünülmektedir. Adezyon faktörlerini ve kemokin reseptörlerini doğrudan hedef alan CXCR4 veya VLA4 antagonistlerinin etkisi saatler içerisinde ortaya çıkarken, G-CSF'nin kemik iliği mikroçevresini düzenleyip maksimum etkiye ulaşması birkaç gün sürmektedir (66, 127). Granülosit-koloni stimüle edici faktör kemik iliğinde yüksek proteolitik ortam yaratmaktadır. Kemik iliği myeloid hücrelerinin salgıladığı matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9), katepsin G, nötrofil elastaz gibi proteazlar VCAM1, CXCL12 gibi moleküllerin yıkımına neden olarak mobilizasyonu sağlar.

Proteolitik ortam yaratmasının yanı sıra, G-CSF'nin makrofajlarda, nestin⁺ MKH'lerde ve osteoblastlarda baskılanmaya neden olarak CXCL12 gibi adezyon moleküllerinin üretiminde azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Granülosit-koloni stimüle edici faktörün mezenkimal kök hücrelerin makrofajlar tarafından uyarılmasının engellenmesi, mikroçevredeki sempatik sinir uyarılarının artırılması, CXCL12 gibi kemotaktik faktörlerin gradientlerinin değiştirilmesi, osteoklastların RANKL (Nükleer Faktör κ B Ligandın Reseptör Aktivatörü) aracılı uyarımının sağlanması ve kompleman kaskadı üzerinden C5a salınımı gibi birçok yolakta etkili olduğu düşünülmektedir (8, 54, 66, 127).

Pleriksafor (AMD 3100), stroma kaynaklı faktör-1 (SDF-1, diğer adıyla CXCL12) ile CXCR4 bağlanmasını engelleyerek mobilizasyonu uyaran ajanlardan biridir. Multipl myelom ve lenfomalı hastalarda G-CSF ile kombine kullanımı Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Kurumu (*U.S. Food and Drug Administration, FDA*) onayı almıştır (5, 139).

Kemik yapının önemli düzenleyicilerinden parathormonun (PTH) da osteoblastları destekleyerek kemik iliğinde HKH sayısını artırdığı saptanmıştır. Faz 1 çalışmalarda G-CSF ile birlikte kullanımının HKH mobilizasyonunu olumlu yönde etkilediği görülmüştür (5, 140).

2.3.4.3. Granülosit-Koloni Stimüle Edici Faktör Yan Etkileri

Granülosit-koloni stimüle edici faktörün en sık yan etkileri kemik ağrısı, halsizlik, baş ağrısı ve bulantıdır. Yapılan çalışmalarda G-CSF ilişkili kemik

ağrısının %60'ın üzerinde vericide geliştiği görülmüştür. Uykusuzluk, baş dönmesi, terleme daha az sıklıkta izlenen yan etkilerdir. Bu yan etkiler genellikle doz bağımlı ve geçicidir. Kadın vericilerde yan etki oranı daha yüksek bulunmuştur. Yüksek vücut kitle indeksine sahip olan vericilerde halsizlik, kas ağrısı, eklem ağrısı, terleme gibi yakınmaların daha sık görüldüğüne dair çalışmalar mevcuttur (3, 141-143).

Ciddi yan etki nedeniyle ortalama %1-3 vericide işleme ara verilmekte veya aferez süreci sonlandırılmaktadır. Avrupa 2009 yılı verilerine göre, vericilerde G-CSF ilişkili ciddi yan etki sıklığı %0,1'dir. Derin ven trombozu/pulmoner emboli, dalak rüptürü, kanama, myokard infarktüsü, nöbet, şiddetli hipertansiyon, aritmi ve transfüzyon ilişkili akut akciğer hasarı (TRALI) ciddi yan etkiler arasındadır (3, 143-145). Granülosit-koloni stimüle edici faktör ilişkili uzun dönem yan etkileri değerlendiren bir EBMT raporunda 51.024 vericiden 20'sinde hematolojik malignite geliştiği ve bu oranın genel popülasyondan farklı olmadığı belirtilmiştir (144).

2.3.4.4. Aferez İşlemi

Aferez işleminde mononükleer hücreler aferez cihazı aracılığıyla toplanmaktadır. Bu işlem için dakikada 60-100 ml kan akımını sağlayacak uygun venöz erişim gerekmektedir. Aferez işlemi, antikoagüle edilmiş kanın santrifüj yöntemiyle alt bileşenlerine ayrılması prensibine dayanmaktadır. Toplanan ürünün hematokrit düzeyinin %2-3 arasında olması önerilmektedir. Fazla miktarda

eritrosit toplanması alıcıda hemoliz reaksiyonlarına neden olabilmektedir (10, 146).

Aferez cihazları arasında ekstrakorporeal hacim, tek veya ikili venöz erişim, ürün hacmi, eritrosit ve trombosit kaybı ve hücre toplama etkinliği açısından farklılıklar bulunmaktadır. Etkin bir aferez işleminin amacı, mümkün olan en az sayıda seansla, daha az hacimde ve daha kısa sürede hedeflenen kök hücre sayısına ulaşmaktır (10, 147).

Aferez işleminde antikoagülan olarak en sık sitrat (Asit Sitrat Dekstroz Solüsyon A, ACD-A) kullanılmaktadır. Aferez işlemine bağlı yan etkiler nadir görülmekle birlikte en sık sitrata bağlı hipokalsemi ve bununla ilişkili parestezi görülebilmektedir. Aferez esnasında profilaktik kalsiyum takviyesi hipokalsemi ilişkili semptomları azaltabilir. Bazı merkezlerde sitrat toksisitesini azaltmak için antikoagülan olarak heparin tercih edilmektedir. Sağlıklı vericide gelişebilecek aferez ilişkili yan etkiler trombositopeni, vazovagal reaksiyonlar, üşüme, venöz giriş yerinde hasar (hematom, tromboflebit, sinir hasarı), mekanik hemoliz, hava embolisi ve elektrokardiyogramda QTc uzamasıdır (3, 10, 127).

2.3.4.5. Hedeflenen Kök Hücre Ürün Miktarı

Mobilizasyon rejimleri ile elde edilen HKH miktarı açısından vericiler arasında değişkenlik mevcuttur ve bazı vericilerden yeterli sayıda kök hücre toplanamamaktadır. Yapılan çalışmalarda hedeflenen CD34⁺ kök hücre ürün miktarı için farklı eşik değerler kullanılmakla birlikte, %2-5 vericide AKHN için

genellikle en alt sınır olarak kabul edilen 2×10^6 CD34⁺ hücre/kg değerine dahi ulaşamadığı görülmektedir (4, 6, 7).

Başarılı bir AKHN için, hazırlık rejimi sonrası alıcıda hematopoietik yeniden yapılanmayı sağlayabilecek miktarda HKH infüzyonu gereklidir. Yetersiz kök hücre infüzyonu, nakil sonrası hematopoietik yeniden yapılanmayı olumsuz etkilemekte, engraftman gecikmesi ve graft yetmezliğine neden olabilmekte; enfeksiyon, kanama ve NİM riskini artırmaktadır (4, 7, 8, 148). Yetersiz mobilizasyon nedeniyle AKHN tedavi seçeneğinin sunulamadığı hastalar, alternatif verici bulunamadığı takdirde, şifa vadeden bir tedavi seçeneğinden mahrum kalabilmektedirler. Çevre kanından yeterli HKH elde edilemezse kemik iliğinin kaynak olarak kullanımı gündeme gelebilmekte, bu durum maliyet ve yan etki artışına sebebiyet vermektedir. Ayrıca, mobilizasyon başarısızlığı sonrası artan G-CSF kullanımı ve aferez işlem sayısı vericideki yan etki riskini de artırmaktadır (8-10).

İdeal mobilizasyon için gerekli olan eşik ürün CD34⁺ hücre sayısı için farklı sınır değerler kullanılmaktadır (4, 5, 7, 8, 91, 148). Hopman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, uyumlu akraba dışı vericilerde $4,2-4,5 \times 10^6$ /kg üzeri değerlerin GVHH riskini artırmaksızın sağkalımı olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir. Öte yandan, $8-14 \times 10^6$ /kg üzeri değerlerde ise GVHH riskinin arttığı öne sürülmüştür. Doku grubu uyumlu kardeşlerde ise kronik GVHH için sınır değer $9,1 \times 10^6$ /kg olarak belirtilmiştir (5). Başka bir çalışmada, HLA uyumlu kardeşten yapılan AKHN için 4×10^6 /kg altındaki değerlerin artmış mortalite ve gecikmiş engraftman ile ilişkisi gösterilmiştir. Akraba dışı vericiler için ise

$6 \times 10^6/\text{kg}$ hücre sayısının hedeflenmesi önerilmiştir (148). Akraba dışı vericiler üzerine yapılan başka bir çalışmada $4,5 \times 10^6/\text{kg}$ üzeri hücre infüze edildiğinde sağkalımın uzadığı ve GVHH'de artış gözlenmediği belirtilmiştir (7). Genel görüş olarak, $2 \times 10^6/\text{kg}$ altında HKH toplandığında tam ve hızlı hematopoietik yapılanma oluşmadığı için $2 \times 10^6/\text{kg}$ yeterli mobilizasyon için minimum eşik değer olarak kabul edilmektedir. Bu değer *mobilizasyon yetmezliği* tanımı için sınır değer olarak kullanılması önerilmektedir (4, 5, 7, 35, 66).

2.4. D Vitamini

2.4.1. D Vitamini Metabolizması

D vitamini insanlarda güneş ışığı ve kısmen de diyetle elde edilebilen, esas olarak kalsiyum ve fosfat metabolizmasında etkili olmakla birlikte, birçok farklı fizyolojik fonksiyonda görev alan bir steroid hormondur. Yağda eriyen vitaminler sınıfındandır. 7-dehidrokolesterol'den başlayan reaksiyonlar ile D vitaminin aktif formu olan vitamin D3 (kalsitriol) sentezlenir (17, 149, 150).

Ergokalsiferol (vitamin D2) ve kolekalsiferol (vitamin D3) olmak üzere iki formu tanımlanmıştır. Vitamin D2 (ergokalsiferol) bazı mantarlarda ve omurgasız canlılarda ergosterolden ultraviyole B (UVB) ışığının etkisiyle sentezlenir. Ergokalsiferol gıda olarak alındığında barsaklardan emilebilmekte ve hidroksilasyon reaksiyonları sonrası 1,25 dihidroksi vitamin D'ye dönüşmektedir. Vitamin D3'ün Vitamin D2'ye göre biyolojik olarak daha aktif olduğu düşünülmektedir (17, 151).

D vitamininin hedef dokularda etkisinin ortaya çıkması için aktif formuna dönüşmesi gerekir. İlk olarak, UV radyasyon maruziyeti ile ciltte 7-dehidrokolesterolden pre-D3 (kolekalsiferol) üretilir. Pre-D3 vitamin D bağlayıcı protein ile ciltten uzaklaştırılır. D vitamini kanda %12-15 oranında albümine bağlanarak taşınmaktadır (150). Karaciğerde ve daha az oranda diğer dokularda bir sitokrom p450 enzimi olan 25-hidroksilaz enzimi ile C-25 bölgesinden hidroksilasyona uğrar ve 25-hidroksi vitamin D [25-(OH)D3] oluşur. Bu form kanda esas olarak dolaşan formudur. Sonrasında böbrekte proksimal tübülde 1-alfa hidroksilaz enzimi ile biyolojik olarak en aktif formu olan 1,25-dihidroksi vitamin D'ye [1,25-(OH)₂D3] (kalsitriol) dönüşür (16, 149, 150, 152).

1-alfa hidroksilaz enzimi (CYP27B1) böbrek dışında epitelyal hücrelerde, immün sistem hücrelerinde ve paratiroid bezinde bulunabilmektedir. Böbrekteki hidroksilasyon işlemi PTH tarafından uyarılır; kalsiyum, fosfor ve fibroblast büyüme faktörü 23 (FGF-23) tarafından inhibe edilir. Böbrek dışı dokularda ise farklı bir kontrol mekanizması mevcuttur. Esas olarak tümör nekroz faktörü-alfa (TNF α) ve interferon gama (IFN-gama) gibi sitokinler tarafından kontrol edilmektedir. Böbrek dışında üretilen D vitamininin farklı fonksiyonlar gösterdiği, intrakrin veya parakrin etki ile hücrelerin çoğalma ve farklılaşmasını düzenlediği düşünülmektedir (150, 152-154).

Böbrekte 24-hidroksilaz enzimi (CYP24A1) 24,25-dihidroksi vitamin D üretimine neden olarak D vitamininin inaktivasyonunu sağlar. 24-hidroksilasyon sonrası çeşitli oksidatif tepkimeler ve glukuronik asit konjugasyonu ile oluşan bileşikler safra yoluyla atılır (150, 154, 155).

Kalsitriol, kalsiyum ve fosfor seviyeleri 1-alfa hidroksilaz ve 24-hidroksilaz enzim aktiviteleri arasındaki dengeyi düzenler. D vitamini ve kalsiyum düzeyleri düşük olduğunda, PTH 1-alfa hidroksilaz sentezini uyarır. Hiperfosfatemi durumlarında FGF-23 1-alfa hidroksilazı baskılar, 24-hidroksilazı ise aktive eder (150, 152, 156).

Ultraviyole ışın maruziyeti sonrası D vitamini maksimum seviyelere ulaştığında, pre-D3'ten lumisterol ve takisterol sentezlenmeye başlar. Böylelikle D vitamininin aşırı seviyelere ulaşması önlenir (150, 152).

2.4.2. D Vitamini Eksikliği

D vitamini eksikliği dünyada yaygın görülmektedir (12, 14, 15, 153, 157). D vitamini düzeyini belirlemek için standart olarak 25-hidroksi vitamin D ölçümü yapılmaktadır. Yapılan çalışmalarda 25-hidroksi vitamin D düzeyi 30 mcg/L'nin altına düştüğünde PTH değerinde artış olduğu görülmüştür (14, 158). D vitamininin optimal düzeyi için görüş birliği olmamakla birlikte; genel görüş 30 mcg/L üzeri değerlerin *yeterli*, 20 mcg/L-30 mcg/L arası değerlerin *yetersizlik*, 20 mcg/L altı değerlerin *eksiklik* olarak tanımlanmasıdır (12, 14, 153). Kuzey Amerika ve Avrupa'da kadın ve erkeklerde D vitamini eksikliği (<20 mcg/L) oranı %20 ile %80 arası değişmektedir. Orta Doğu ülkelerinde bu oran %50-97 düzeyindedir (12, 14). Türkiye'de 2018 yılında yapılan bir çalışmada, gebe kadınlarda ortalama D vitamini düzeyi 14,8 mcg/L bulunmuştur, D vitamini eksikliği (<20 mcg/L) gebelerin %49'unda saptanmıştır (159). Manisa'da kış

mevsimi sonunda yapılan bir çalışmada ortalama D vitamini düzeyi 16,9 mcg/L hesaplanmış; D vitamini eksikliği kadınlarda %78,7, erkeklerde %66,4 oranında görülmüştür (13). Holick ve arkadaşlarının yayınladığı kılavuza göre, D vitamini eksikliği saptanan tüm yetişkinlerin D vitamini düzeyini 30 mcg/L üzerine çıkarmak için 8 hafta boyunca haftada bir kez 50.000 IU (*International Units*) (veya günlük 6.000 IU) vitamin D2 veya vitamin D3 ile tedavisi önerilmektedir. Önerilen idame tedavi dozu günlük 1500-2000 IU'dir (153).

2.4.3. Vitamin D Reseptörü

Aktif D vitamini VDR'ye bağlanarak etki gösterir. Vitamin D reseptörü nükleer hormon reseptör ailesinin bir üyesidir. Steroid, tiroid hormon ve retinoik asit reseptörleri de bu aile içinde yer almaktadır (152, 160). Vitamin D reseptörünü kodlayan gen 12. kromozomda bulunmaktadır (17, 22, 161). Diğer nükleer hormon reseptörlerine kıyasla oldukça kısa bir N-terminal bölgesine sahiptir (150, 161). Vitamin D reseptör genindeki çeşitli polimorfizmler nedeniyle bireyler arasında anlamlı farklılıklar oluşabilmekte ve bu polimorfizmler farklı biyolojik etkilerle ilişkili olabilmektedir (22, 162). Yetişkin boyu, kemik mineral dansitesi, erken periodontal hastalık ve tüberküloza duyarlılık bunlardan bazılarıdır (22, 163, 164). Vitamin D reseptörü, D vitamininin hedef genlerini düzenlemek için çoğunlukla retinoid X reseptörüne (RXR) bağlanır ve heterodimer oluşturur. Oluşan VDR/RXR kompleksi *vitamin D yanıt elemanları* (VDREs) olarak bilinen hedef DNA dizileriyle etkileşime geçer. Böylelikle hedef

genlerin transkripsiyonu düzenlenir (17, 160, 161, 165). Heterodimer oluşturan VDR/RXR kompleksi hedef genlerin transkripsiyonunun aktivasyonuna veya inhibisyonuna neden olabilir (150, 160, 161).

Vitamin D reseptörünün, kemik ve kalsiyum homeostazında görevli hücrelerin yanı sıra, farklı hücrelerde de bulunduğu gösterilmesiyle, D vitamininin kemik dışı dokulardaki görevleri daha iyi anlaşılmıştır (16, 17). D vitamini, plazma membran reseptörü ile etkileşime geçerek mitojen aktive kinaz (MAPK) veya siklik AMP gibi ikincil mesajcılar üzerinden etki gösterebilir. Bu ikincil mesajcılar üzerinden pankreas beta hücrelerinde, damar düz kas hücrelerinde, barsakta ve monositlerde etki gösterdiği saptanmıştır (16, 165, 166).

2.4.4. D Vitamininin Fonksiyonları

D vitamininin uzun süredir bilinen en önemli fonksiyonu plazma kalsiyum düzeylerinin idamesini sağlamak ve böylelikle kemik mineralizasyonunu desteklemektir. Aksi takdirde plazmada kalsiyum ve fosfor düzeylerinin azalması kemik mineralizasyonunu bozarak çocuklarda rikets, erişkinlerde osteomalazi gibi hastalıklara neden olabilmektedir (14, 153, 167).

D vitamini barsaktaki aktif kalsiyum emiliminden sorumlu proteinleri gen ifadenmesi yoluyla uyardığı bilinen tek hormondur. Ayrıca barsaktan fosfor emilimini de artırmaktadır. Diyetle yeterli kalsiyum alınamaması gibi durumlar için plazmada kalsiyum düzeylerinin korunması önemlidir. D vitamini osteoblastların RANKL üretimini artırmaktadır. Sonrasında RANKL

osteoklastogenezisi uyarmakta ve istirahat halindeki osteoklastları aktive ederek kemik rezorpsiyonunu sağlamaktadır. Kemikten kalsiyumun mobilize edilebilmesi için hem PTH hem de D vitamininin varlığı gereklidir. Ayrıca, distal renal tübülde kalsiyum geri Emilimi için de D vitamini ve PTH etkisi önemlidir (157, 165, 167). Öte yandan, yapılan çalışmalarda D vitamininin in vivo ortamda osteoblastları aktive ettiği ve kemik üzerine anabolik etkisinin de bulunduğu saptanmıştır (165, 168, 169).

Paratiroid bezinde bulunan kalsiyum-duyarlı proteinler kalsiyum düzeyinde azalma olduğunda PTH salınımını uyarır ve PTH böbrek proksimal tübüllerinden 1-alfa hidroksilaz üretimini artırır. Plazma kalsiyum düzeyi belli bir eşiğin üzerine çıktığında kalsiyum-duyarlı reseptörler PTH üretimini baskılar. Salınan kalsitonin etkisiyle kemikten kalsiyum mobilizasyonu engellenir. Kalsitonin ayrıca normokalsemik durumlarda 1-alfa hidroksilazı aktive ederek kalsiyum dışı ihtiyaçlar için aktif D vitamini üretimini artırabilir (167, 170).

D vitamini PTH sentez ve salınımını inhibe etmektedir. Ayrıca paratiroid bezindeki hücre çoğalmasını da azaltmaktadır. D vitamininin PTH üzerine olan inhibisyonu önemli bir olumsuz geri besleme mekanizması oluşturmaktadır. Ciddi D vitamini eksikliğinde osteomalazi gelişmesinin yanında, PTH'nın da artması kemik rezorpsiyonunu hızlandırmakta ve patolojik kırık gelişim riskini artırmaktadır (152, 165, 171).

D vitamininin bahsedilen klasik etkilerinin yanı sıra farklı fonksiyonları da bulunmaktadır. İnsülin ve tiroid stimulan hormon salınımını uyarması, iskelet kas

fonksiyonu için gerekli olması ve eksikliğinde proksimal kas güçsüzlüğü gelişmesi, kalp kası tarafından kalsiyum alımını uyarması ve eksikliğinin erkeklerde myokard infarktüsü ile ilişkili olduğunun gösterilmesi D vitamininin diğer fonksiyonları arasında sayılabilir (16, 150).

D vitamini hücre çoğalması ve farklılaşması için de önemlidir. Normal meme gelişimi ve hepatik hücre gelişimi üzerine etkisinin olduğu gösterilmiştir (150, 152, 157).

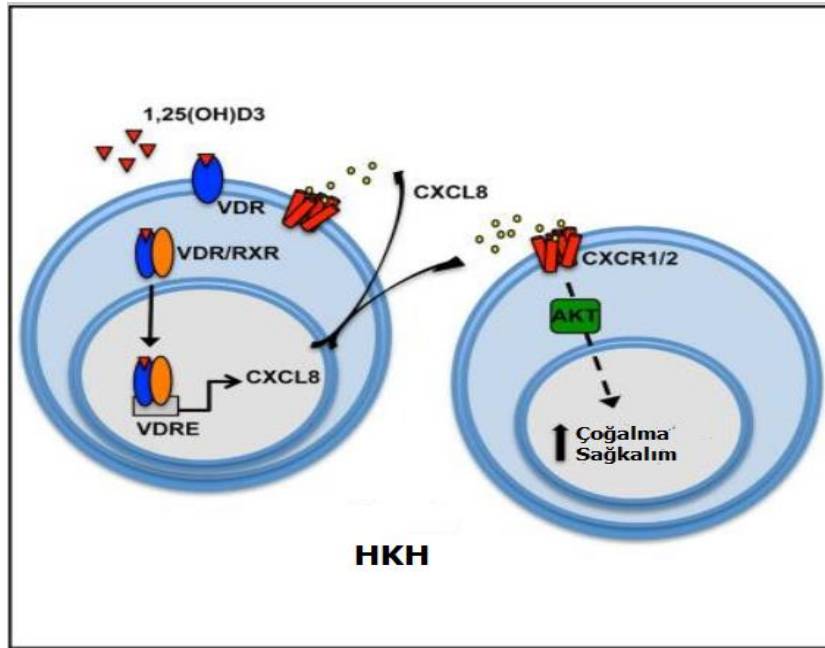
2.4.5. D Vitamininin İmmün ve Hematopoietik Sistem Üzerine Etkileri

Vitamin D reseptörünün hematopoietik öncül hücrelerde, monositlerde, timositlerde, aktive B ve T lenfositlerde varlığı gösterilmiştir (17, 172, 173). Hayvan çalışmalarında VDR geninin HKH'lerde yüksek oranda bulunan 33 genden biri olduğu görülmüştür (25, 174).

Monosit ve makrofaj farklılaşmasının sağlanması D vitamininin önemli etkilerindendir. D vitamininin promyelositik lösemik hücre serisi olan HL60 hücrelerinde monositik farklılaşmayı sağladığı gösterilmiştir. D vitamini, normal mononükleer kan hücrelerinin de monosit/makrofaj yönünde olgunlaşmasını sağlamaktadır (17, 150, 175, 176). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, hematopoietik öncül hücrelere aktif D vitamini verildiğinde monosit/makrofaj yönünde farklılaşma ve olgunlaşma sağlandığı görülmüş; VDR bulunmayan farelerde bu etkinin olmadığı gözlenmiştir (150). Farklı bir çalışmada farelerde VDR kaybının anormal kemik mineralizasyonu nedeniyle ilik dışı hematopoeze

neden olduğu saptanmıştır (177). Retinoik asit reseptörü (RAR) RXR'ye bağlanabilmektedir. Bu etkileşim, hücrelerde granülopoez yönünde farklılaşma sağlamaktadır (17, 150, 175, 178). Hücre kültür çalışmalarında, RAR ve VDR'nin RXR'ye bağlanmak için yarıştığı görülmüş ve bu dengenin monositopoez ve granülopoez arasındaki dengeyi düzenlediği düşünülmüştür (17, 150, 178, 179).

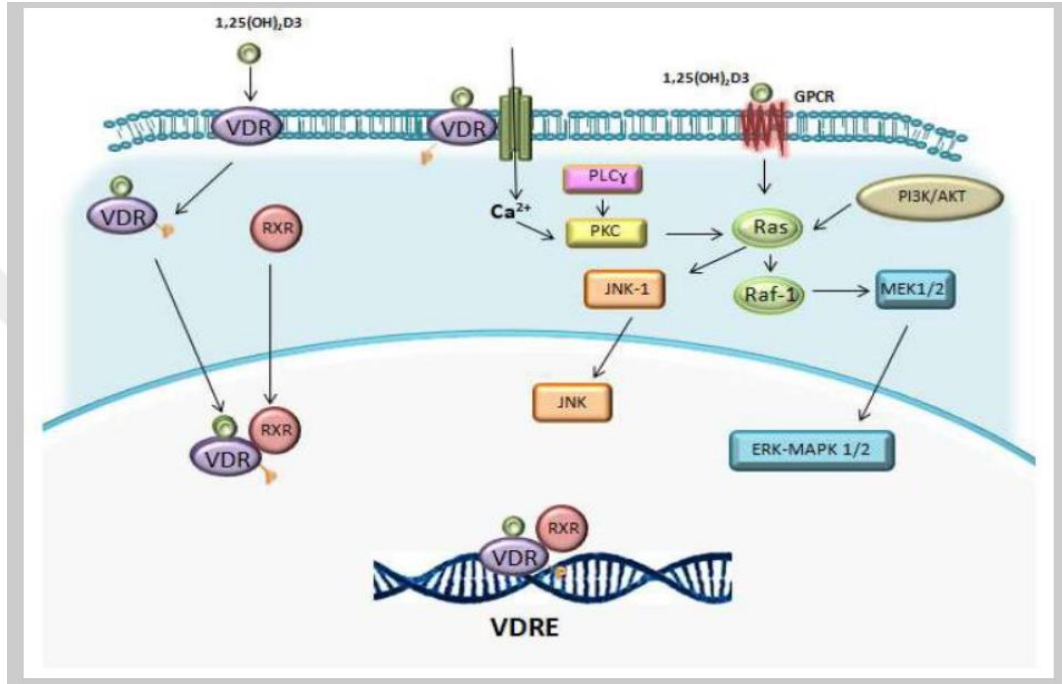
Cortes ve arkadaşlarının hayvan embriyoları üzerinde yaptıkları çalışmada, aktif D vitamininin kalsiyumdan bağımsız olarak embriyonik HKH proliferasyonunu artırdığı ve bu etkiyi inflamatuvar kemokin olan CXCL8'in VDR aracılı transkripsiyonel aktivasyonu ile yaptığı gösterilmiştir (Şekil 5). Aktif D vitamini verildiğinde, umbilikal kord kanı HKH'lerinin çoğalmasını artırdığı ve sağkalımını uzattığı görülmüştür. Vericilerdeki D vitamini düzeyinin KHN üzerine etkisini değerlendiren çalışmalara ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır (25).



Şekil 5. D Vitamininin Hematopoietik Kök Hücreye Etkisi (25)

CXCL8: kemokin cxc ligand 8

Şekil 6’da D vitamininin hücre farklılaşmasını desteklemek için kullandığı sinyal yolları gösterilmektedir.



Şekil 6. D Vitaminini Sinyal Yolları (150)

1,25(OH)₂D₃ etkisini lipid sinyal yolağı (protein kinaz C), fosfatidilinositol-3-kinaz(PI3K)-AKT yolağı ve MAPK yolağı üzerinden göstermektedir.

D vitamininin farklılaşmayı destekleyen *anti-lösemik* etkileri nedeniyle hematolojik malignitelerin tedavisinde kullanımı gündeme gelmiştir. Özellikle MDS ve AML tedavisinde olası katkısını değerlendiren çalışmalar yapılmış, bazı çalışmalarda hiperkalsemi geliştiği görülmüş, henüz rutin kullanıma girmesini sağlayacak yeterli kanıt elde edilememiştir (16-19, 150). Lenfoid maligniteler için de yapılmış prelinik çalışmalar bulunmakla birlikte, insanlar üzerinde yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır (21, 150, 173). Radujkovic ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, MDS ve sekonder AML hastalarında ilk basamak

azasitidin tedavisi sonrası D vitamini düzeyinin sağkalımı etkilediği gösterilmiştir (180).

Vitamin D reseptörünün antijen sunumunu düzenleyebildiği gösterilmiştir. Vitamin D reseptörünün dendritik hücrelerde bulunduğu, T lenfositlere antijen sunumunu baskıladığı ve böylelikle immün toleransta etkili olduğu düşünülmektedir (152, 181, 182). Bu görüşü destekleyen fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, pankreas adacık hücre nakli sonrası D vitamini verildiğinde doku reddinin azaldığı saptanmıştır (183).

D vitamininin yardımcı T lenfosit-1 aracılı doku hasarını azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Ayrıca, inflamatuvar barsak hastalığı olan hayvan modellerinde D vitamininin IL-17 ifadenmesini baskıladığı da gösterilmiştir (150, 184). D vitamini IL-10 salınımını artırmaktadır. D vitamininin CD4⁺ hücrelerin aksine CD8⁺ T lenfositler üzerine sınırlı etkisi bulunmaktadır. D vitamini plazma hücre sayısını ve immünglobulin düzeylerini azaltmaktadır (150, 185). D vitamininin immün düzenleyici etkileri göz önüne alınarak vitamin D analoglarının psöriazis gibi otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanımı üzerine yapılan çalışmalar bulunmaktadır (17, 186).

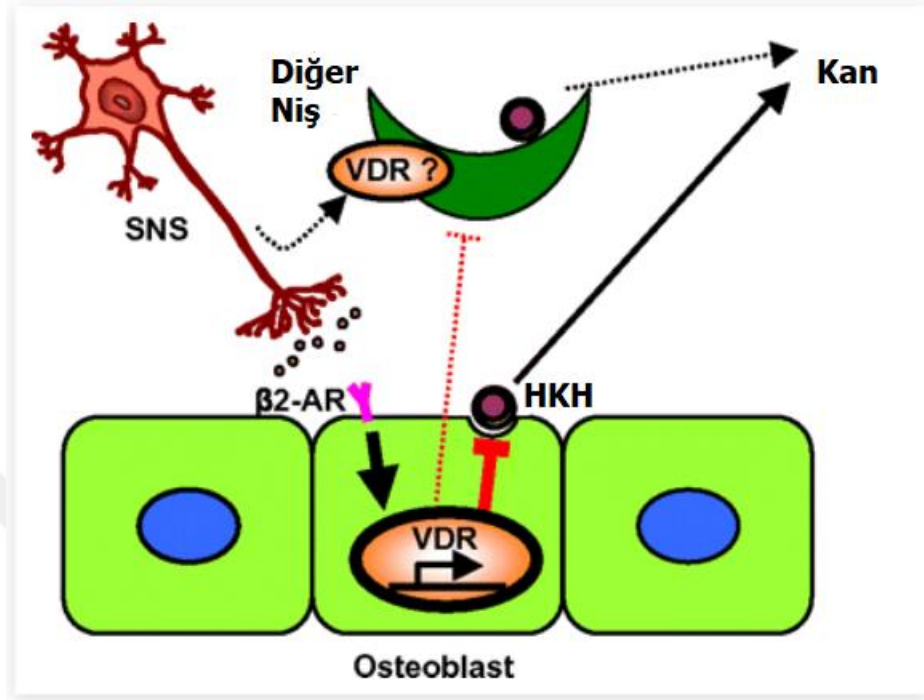
2.4.6. D vitamini ve Hematopoietik Kök Hücre Nakli

D vitamininin hematolojik ve immün sistem üzerine olan etkileri AKHN yapılan hastalarda değerlendirilmiştir. Kök hücre nakli öncesi alıcıdaki vitamin D

eksikliğinin kronik GVHH ve enfeksiyon gelişimiyle ilişkisinin olabileceği gösterilmiştir (20, 21).

Vitamin D reseptör gen polimorfizmlerinin etkisini inceleyen çalışmalarda AKHN’de hem alıcı hem de vericideki VDR gen polimorfizmleri değerlendirilmiş; farklı VDR genotiplerinin sağkalım ve akut GVHH oranlarını değerıstirebildiği sonucuna ulaşılmıştır (22, 23, 187).

Kawamori ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, HKH’lerin G-CSF aracılı mobilizasyonundaki mekanizmanın osteoblastlardaki beta 2 - adrenerjik reseptörlerin uyarılarak osteoblastların baskılanması olduğu belirtilmiş, VDR’dan yoksun farelerde osteoblast baskılanmasının ve kök hücre mobilizasyonunun bozulduğune sürülmüştür (şekil 7). Vitamin D reseptörünü etkileyen ajanların HKH mobilizasyonuna katkıda bulunabileceği sonucuna varılmıştır (24).



Şekil 7. Hematopoietik Kök Hücre Mikroçevresinin Nöronal Düzenlenmesinde Vitamin D Reseptörünün Rolü (24)

VDR (vitamin D reseptörü) osteoblastlarda sempatik sinir sistemi aracılığıyla, osteoblastik nişin doğrudan baskılanması için gerekli olan beta 2 - adrenerjik sinyal ile uyarılır. Bu model kemik iliği parankimindeki diğer nişlerde de rol alabilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Şekli

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi (GÜTF) Hematoloji Bilim Dalı Kök Hücre Nakil Ünitesi'nde, Ağustos 2013 - Ekim 2018 tarihleri arasında allojeneik hematopoietik kök hücre vericisi olmuş bireylerin yazılı ve elektronik ortamdaki verileri geriye dönük olarak incelendi.

3.2. Kök Hücre Vericileri

Çalışmaya HKH mobilizasyonu yapılmış olan 18-70 yaş aralığındaki toplam 112 erişkin kök hücre vericisi dahil edildi. Çalışma grubunda ortalama yaş 39,5(18-69) iken, kadın/erkek oranı 50/62 idi.

İçleme Ölçütleri:

- Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı Kök Hücre Nakil Ünitesi'nde, Ağustos 2013 - Ekim 2018 tarihleri arasında allojeneik HKH vericisi olanlar
- 18-70 yaş aralığındaki sağlıklı vericiler
- Çevre kanı kaynaklı kök hücre vericileri
- Kardeş/akraba vericiler

Dışlama Ölçütleri:

- 18 yaş altı ve 70 yaş üstü vericiler

- Kemik iliği kaynaklı kök hücre vericileri
- Akrafa dışı kök hücre vericileri

Yaş, cinsiyet, boy, vücut ağırlığı, venöz erişim yolu (periferik ven veya santral venöz kateter), ilk aferez işlem günü bakılan çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı, ilk aferez gününde elde edilen ürünlerdeki CD34⁺ hücre sayısı, toplam ürünlerdeki CD34⁺ hücre sayısı, uygulanan G-CSF dozu ve süresi, aferez işlem sayısı, toplam ürün hacmi, toplam plazma hacmi, toplam ürünlerdeki total nükleuslu hücre (TNC), total mononükleer hücre (TMNC), total ürünlerdeki CD3⁺ hücre sayısı, total ürünlerdeki CD19⁺ hücre sayısı ve ürün viabilite (canlılık) oranı (%) verileri kök hücre vericilerine ait dosya kayıtlarından elde edildi.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kök Hücre Nakil Ünitesi'nde allojeneik kök hücre mobilizasyonu öncesinde vericilerden rutin olarak istenen 25-hidroksi vitamin D düzeyi, hemoglobin, lökosit (nötrofil, lenfosit ve monosit sayı ve oranları), platelet, ABO kan grubu, sedimentasyon, c-reaktif protein, serum demiri, serum demir bağlama kapasitesi, transferrin saturasyonu, ferritin, vitamin B12, folat, kan üre nitrojeni (BUN), kreatinin, ürik asit, alanin amino transferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), albümin, laktat dehidrogenaz (LDH), kalsiyum, fosfor, total kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) ve trigliserid düzeylerine ait veriler de elektronik ortamdan elde edilerek oluşturulan veri tabanına kaydedildi.

Çalışmaya alınan vericilerde mobilizasyon öncesi rutin olarak bakılan serum 25-hidroksi vitamin D [25-(OH)D3] düzeyleri, GÜTF Biyokimya Laboratuvarı'nda Beckman Coulter DXI 800 cihazı kullanılarak kemilüminesans immünoanaliz (CLIA) yöntemiyle çalışılmıştır.

3.3. Aydınlatılmış Onam

Hematopoietik kök hücre vericileri, mobilizasyon ve toplama işlemi öncesinde dosya kayıtlarının kimlik bilgileri açıklanmadan klinik araştırmalarda kullanılabileceğine dair bilgilendirilmiş ve vericilerden buna yönelik yazılı onam formu alınmıştır.

3.4. Kök Hücre Mobilizasyonu ve Aferez

Hematopoietik kök hücre vericilerine mobilizasyon rejimi olarak G-CSF 10 mcg/kg/gün dozunda, en az 4 gün süreyle subkütan olarak uygulandı. Granülosit-koloni stimüle edici faktör uygulamasının 4. gününde çevre kanındaki CD34⁺ hücre sayısı akım sitometrik yöntemle değerlendirildi. Sorumlu hekimin hasta ve verici temelli kararına göre eşik değer değişebilmekle birlikte genel olarak CD34⁺ hücre sayısı >10/μL olan vericilerde aferez işlemine geçildi. Hedeflenen CD34⁺ hücre sayısına ulaşılamayan vericilerde G-CSF uygulamasına devam edildi. Aferez işlemi hedeflenen ürün CD34⁺ hücre sayısına ulaşılan kadar sürdürüldü. Bunun için 2x10⁶/kg CD34⁺ hücre sayısı alt sınır olarak kabul edildi. Hastanın ve vericinin durumu gözetilerek sorumlu hekimin inisiyatifi

doğrultusunda gerek görüldüğünde ek olarak CD34⁺ten zengin kök hücre veya donör lenfosit toplaması yapıldı.

3.4.1. Çevre Kanı ve Aferez CD34⁺ Hücre Sayımı

Çevre kanı ve aferez ürünündeki CD34⁺ hücrelerin sayımı GÜTF Erişkin Hematoloji Laboratuvarı'nda Beckman Navios cihazı ile ISHAGE protokolü kullanılarak akım sitometrik değerlendirme ile yapıldı.

Hücre sayımı için öncelikle EDTA'lı (Etilen Diamin Tetra Asetik Asit) tüpe çevre kanı örneği alınarak lökosit sayımı ve immün tiplendirme yapıldı. İmmün tiplendirme için 100 mcL kan örneğine CD45/CD34 (10 mcL) ve 7-amino-aktinomis D (7AAD) (10 mcL) antikorları eklendi. Sonrasında vorteks uygulanıp karanlık ortamda 15 dakika inkübe edildi. Ardından üzerine 1/10 dilüe 2 mL lysing solüsyon ilave edildi. Tekrar vorteks uygulanıp 10 dakika karanlık ortamda bekletildi. Üzerine 100 mcL trocount boncuk ilave edildi ve vorteks uygulandı. Akım sitometri cihazında 75.000 canlı hücre sayılarak analiz edildi.

Ürün CD34⁺ hücre sayısı aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

Aferez CD34⁺ hücre sayısı= Canlı CD34⁺ hücre (/mcL) x ürün hacmi (mL) x 1000
/hasta ağırlığı (kg)

3.4.2. Aferez İşlemi

Aferez işlemleri için Optia Apheresis System cihazı kullanıldı. Granülosit-koloni stimüle edici faktör uygulamasının 4. gününde çevre kanında yeterli sayıda CD34⁺ hücre elde edildiğinde, aferez işlemi ile vericilerin kök hücreleri ortalama 4-6 saatte toplandı. İşlemler sırasında vericilerin kan hacimlerinin ortalama 2-3 katı (yaklaşık 15 lt) kan işlendi. İşlemlerde vericilere antikoagülan olarak Asit Sitrat Dekstroz Solüsyon A (ACD-A) verildi. Hipokalsemiyi önlemek amacıyla kalsiyum replasmanı yapıldı.

3.5. Etik Kurul Onayı ve Bütçe

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 03.07.2017 tarihinde değerlendirilmiş ve 350 karar numarası ile onaylanmıştır.

Çalışma esnasında veriler geriye dönük analiz edilmiş olup herhangi bir bütçe kullanımı gerekmemiştir.

3.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi için SPSS 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) istatistik programı kullanıldı. Verilerin karşılaştırılması için Bağımsız Örneklem T-Testi ve Mann Whitney U testi, kategorik değişkenler için Ki-kare testi kullanıldı. Korelasyon analizleri Pearson ve Spearman testleri kullanılarak yapıldı. Değişkenler arasındaki ilişki regresyon analizi ile değerlendirildi. $p < 0,05$ istatistiksel anlamlılık değeri olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Vericilerin Genel Özellikleri

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı Kök Hücre Nakil Ünitesi'nde, Ağustos 2013 - Ekim 2018 tarihleri arasında çevre kanı kaynaklı allojeneik HKH vericisi olan toplam 112 gönüllü verici çalışmaya dahil edildi.

Çalışma grubunda ortalama yaş 39,5(18-69) yıl olarak hesaplandı, vericilerin 62'si (%55,4) erkek, 50'si (%44,6) kadındı (Tablo 2).

Vericilerin 55'ine (%49,1) aferez işlemi öncesinde Girişimsel Radyoloji bölümü tarafından anjiyografi eşliğinde geçici juguler venöz kateter takıldı; kateter kök hücre toplama işlemi tamamlandıktan sonra çıkarıldı. 57 vericide (%50,9) kateter gereksinimi olmadı, venöz erişim yolu olarak periferik venler kullanıldı.

Toplam 107 vericinin vücut kitle indeksi (VKİ) bilgilerine ulaşıldı. Vericilerin 79'unda (%73,8) VKİ 30 kg/m^2 'nin altında iken, 28 vericinin (%26,2) 30 kg/m^2 ve üzerindeydi. Vücut kitle indeksi için ortalama değer 26,1(15,1-49,9) kg/m^2 olarak hesaplandı. Çalışma grubunda ortalama vücut ağırlığı 73(35-120) kg, ortalama boy 167(148-190) cm idi.

Vericilerin kan grubu dağılımı; 38 vericide (% 33,9) O Rh(+), 37 vericide (%33) A Rh(+), 17 vericide (%15,2) B Rh(+), 11 vericide (%9,8) AB Rh(+), 6 vericide (%5,3) A Rh(-), 3 vericide (%2,7) B Rh(-) idi.

Tablo 2. Kök Hücre Vericilerinin Genel Özellikleri

	Parametre	Verici sayısı (n=112)	Oran (%)
Yaş	18-30	30	26,8
	31-40	27	24,1
	41-50	23	20,5
	51-60	26	23,2
	61-70	6	5,4
Cinsiyet	Kadın	50	44,6
	Erkek	62	55,4
Vücut kitle indeksi (kg/m ²) (n=107)	<25	47	43,9
	25-29,9	32	29,9
	30-34,9	23	21,5
	>35	5	4,7
Venöz erişim yolu	Periferik ven	57	50,9
	Santral venöz kateter	55	49,1

4.2. Mobilizasyon ve Aferez Sonuçları

Tüm vericilere en az 4 gün G-CSF uygulandı ve dördüncü G-CSF gününden sonra aferez işlemine başlandı. Granülosit-koloni stimüle edici faktör uygulama süresi erkeklerde ortalama 4(4-6) gün iken, kadınlarda 5(4-6) gündü.

Vericilere ortalama 2(1-3) kez aferez işlemi uygulandı [Erkek: 1(1-3); Kadın: 2(1-3)]. Toplam 53 verici (%47,3) 1 seans, 55 verici (%49,1) 2 seans, 4 verici (%3,6) 3 seans aferez işlemine alındı.

Granülosit-koloni stimüle edici faktör 4. gününde gönderilen ortalanca çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı 36,5(7-206) /mcl olarak hesaplandı. Dört vericide çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı 10/mcl'nin altındaydı (Tablo 3).

Tablo 3. Çevre Kanı CD34⁺ Hücre Sayısı

Çevre kanı CD34 ⁺ hücre sayısı (/mcl)	Verici sayısı (n=112)	Oran (%)
<10	4	3,6
10-19,99	16	14,3
>20	92	82,1

İlk aferez işleminde elde edilen ortalanca ürün CD34⁺ hücre sayısı 5,3(0,5-22,8)x10⁶/kg olarak saptandı. Erkek vericilerde ortalanca ilk ürün CD34⁺ hücre sayısı 6,3(0,5-22,8)x10⁶/kg, kadın vericilerde ise 4,7(1,4-16,6)x10⁶/kg idi (p=0,049). Toplam 11 (%9,8) vericide mobilizasyon yetmezliği için eşik değer kabul edilen 2x10⁶/kg değerine ulaşamadı (Tablo 4).

Tablo 4. İlk Aferez Günü Ürün CD34⁺ Hücre Sayısı

İlk ürün CD34+ hücre sayısı (x10 ⁶ /kg)	Verici sayısı (n=112)	Oran (%)
<2	11	9,8
2-3,99	21	18,8
4-5,99	28	25
6 ve üzeri	52	46,4

Çalışmaya alınan vericilerde ortalama 2(1-3) kez aferez işlemi sonunda elde edilen toplam ürün CD34⁺ hücre ortalama değeri 8,1(1,9-22,8) x10⁶/kg idi.

Tablo 5. Toplam Üründeki CD34⁺ Hücre Sayısı

Toplam ürün CD34+ hücre sayısı (x10 ⁶ /kg)	Verici sayısı (n=112)	Oran (%)
<2	1	0,9
2-3,99	4	3,6
4-5,99	22	19,6
6 ve üzeri	85	75,9

Vericilerde ortalama toplam ürün hacmi 587(90-1096) ml olarak belirlendi.

Aferez sonuçlarına dair ortalama ve aralık değerler Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Aferez Sonuçları

Parametre	Ortanca	Aralık
Çevre kanı CD34 ⁺ hücre sayısı (/mcl)	36,5	7-206
İlk ürün CD34 ⁺ hücre sayısı (x10 ⁶ /kg)	5,3	0,5-22,8
Toplam ürün CD34 ⁺ hücre sayısı (x10 ⁶ /kg)	8,1	1,9-22,8
Toplam ürün hacmi (ml)	587	90-1096
Toplam plazma hacmi (ml)	100	50-300
TNC (x10 ⁸ /kg) (toplam ürün)	16,2	7,2-37,9
TMNC (x10 ⁸ /kg) (toplam ürün)	7,7	2,2-19,5
CD3 ⁺ hücre sayısı (x10 ⁷ /kg) (toplam ürün)	317,4	114,8-928,4
CD19 ⁺ hücre sayısı (x10 ⁷ /kg) (toplam ürün)	82	16,2-263,2
Ürün viabilite (canlılık) oranı (%)	96,3	64,8-100

TNC: total nükleuslu hücre, TMNC: total mononükleer hücre

4.3. D Vitamini ve Diğer Laboratuvar Verilerine Ait Sonuçlar

Çalışmaya alınan vericilerin ortalama 25-hidroksi vitamin D düzeyi 15,8(3-63,2) mcg/L saptandı. Erkek vericilerde ortalama D vitamini düzeyi 18,7(4,1-63,2) mcg/L, kadın vericilerde 11,5(3-62,6) mcg/L idi (Tablo 9). D vitamini düzeyi kadın vericilerde erkek vericilerle karşılaştırıldığında anlamlı düşük saptandı (p=0,007). Çalışmada D vitamini düzeyi 30 mcg/L üzerinde olması yeterlilik, 20

mcg/L-30 mcg/L arasında *yetersizlik*, 20 mcg/L altında *eksiklik* olarak tanımlandı. Vericilerin 72'sinde (%64,3) D vitamini eksikliği (<20 mcg/L), 25'inde (%22,3) D vitamini yetersizliği (<30 mcg/L) saptandı. On beş vericinin (%13,4) D vitamini yeterli (>30 mcg/L) düzeydeydi (Tablo 7).

Tablo 7. Vericilerdeki D Vitamini Düzeylerinin Gruplandırılması

D vitamini düzeyi (mcg/L)	Verici sayısı (n=112)	Oran (%)
<10	29	25,9
10-19,9	43	38,4
20-29,9	25	22,3
>30	15	13,4

Tablo 8'de kök hücre vericilerine ait laboratuvar bulguları ortalanca değerleri ve aralıklarıyla gösterilmektedir.

Tablo 8. Donör ve Aferez Verilerinin Ortanca Değerleri [Ortanca(Aralık)]

Hemoglobin (g/dl)	14,2(10,4-17,3)
Lökosit (x10 ³ /ul)	6,9(3,8-13,1)
Platelet (x10 ³ /ul)	265(90-400)
Yaş (yıl)	39,5(18-69)
Vücut kitle indeksi (kg/m ²)	26,1(15,1-49,9)
Aferez sayısı	2(1-3)
Ürün hacmi (ml)	587(90-1096)
Çevre kanı CD34⁺ hücre	36,5(7-206)

sayısı (/mcl)	
İlk ürün CD34⁺ hücre sayısı (x10 ⁶ /kg)	5,3(0,5-22,8)
Toplam ürün CD34⁺ hücre sayısı (x10 ⁶ /kg)	8,1(1,9-22,8)
TNC (x10 ⁸ /kg)	16,2(7,2-37,9)
TMNC (x10 ⁸ /kg)	7,7(2,2-19,5)
CD3⁺ hücre sayısı (x10 ⁷ /kg)	317,4(114,8-928,4)
Viabilite (canlılık) oranı (%)	96,3(64,8-100)
CRP (mg/L)	3,1(1-37,3)
Transferrin saturasyonu (%)	24,2(5,1-69,1)
Ferritin (ng/ml)	45,2(4-531,4)
Vitamin B12 (pg/ml)	254,3(95-1616)
Folat (ng/ml)	8,5(3,2-22,4)
BUN (mg/dl)	13,5(8-27,6)
Kreatinin (mg/dl)	0,7(0,4-1,1)
Ürik asit (mg/dl)	5(2,5-8,2)
ALT (U/L)	19(5-104)
ALP (U/L)	80,2(34-170)
Albümin (g/dl)	4,6(3,9-5,4)
LDH (U/L)	190(113-309,1)
Kalsiyum (mg/dl)	9,6(8,7-10,5)

Fosfor (mg/dl)	3,3(2,2-4,6)
Total kolesterol (mg/dl)	191,3(120,9-331)
LDL (mg/dl)	113,7(51-241,8)
HDL (mg/dl)	45,6(26,4-86,8)
VLDL (mg/dl)	21,1(8,3-104,4)
Trigliserid (mg/dl)	106(41,4-521,9)
25-hidroksi Vitamin D (mcg/L)	15,8(3-63,2)

TNC: total nükleuslu hücre, TMNC: total mononükleer hücre, CRP: C-reaktif protein, BUN: kan üre nitrojeni, ALT: alanin amino transferaz, ALP: alkalen fosfataz, LDH: laktat dehidrogenaz, LDL: düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL: yüksek yoğunluklu lipoprotein, VLDL: çok düşük yoğunluklu lipoprotein.

Tablo 9’da vericilere ait laboratuvar bulgularının kadın ve erkek vericiler arasında karşılaştırmalı değerlendirmesi gösterilmektedir.

Tablo 9. Ortanca Değerlerin [Ortanca(Aralık)] Kadın ve Erkek Vericiler Arasında Karşılaştırmalı Değerlendirmesi

	Erkek	Kadın	p değeri
Boy (cm)	172,5(158-190)	160(148-170)	<0,001
Vücut ağırlığı (kg)	76(52-120)	69(35-120)	0,01
Aferez sayısı	1(1-3)	2(1-3)	0,048
İlk ürün CD34⁺ hücre sayısı (x10⁶/kg)	6,3(0,5-22,8)	4,7(1,4-16,6)	0,049
Hemoglobin (g/dl)	15,3(10,7-17,3)	13,1(10,4-15,9)	<0,001
Platelet (x10³/ul)	236,6(97,1-400)	284(90-389)	0,019
CRP (mg/L)	2,7(1-15,7)	3,5(1-37,3)	0,031
Transferrin saturasyonu (%)	26,7(7,8-69,1)	17,4(5,1-65,7)	<0,001
Ferritin (ng/ml)	72,6(11-252)	23,5(4-531,4)	0,001
BUN (mg/dl)	14(8,5-22,2)	11,2(8-27,6)	0,026

Kreatinin (mg/dl)	0,8(0,6-1,1)	0,7(0,4-1)	<0,001
Albümin (g/dl)	4,7(3,9-5,2)	4,5(4-5,4)	0,004
Kalsiyum (mg/dl)	9,7(8,7-10,5)	9,5(8,8-10,1)	0,025
Fosfor (mg/dl)	3,2(2,2-4,2)	3,4(2,6-4,6)	0,029
ALT (U/L)	22(9-104)	15(5-34)	<0,001
Ürik asit (mg/dl)	5,1(2,6-8,2)	4,3(2,5-8,1)	<0,001
25-hidroksi Vitamin D (mcg/L)	18,7(4,1-63,2)	11,5(3-62,6)	0,007

4.4. Korelasyon Analizleri

Tablo 10’da korelasyon analiz sonuçları “p” değeri ve “r” (korelasyon katsayısı) ile birlikte gösterilmektedir.

Tablo 10. Korelasyon Analiz Sonuçları

		“p” değeri	“r” değeri
D vitamini	Transferrin saturasyonu	0,01	0,244
	Kreatinin	0,007	0,255
Yaş	Vücut kitle indeksi	<0,001	-0,5
	Lökosit	0,009	0,246
	CRP	<0,001	0,39
	Vitamin B12	0,015	0,229
	ALP	0,015	0,231
	Albümin	0,011	-0,241
	Kalsiyum	0,009	-0,246
	Total kolesterol	<0,001	0,431
	LDL	0,001	0,303
	Trigliserid	<0,001	0,393
Vücut kitle indeksi	TNC	0,03	-0,210
	Lökosit	0,001	0,328
	CRP	<0,001	0,421
	Vitamin B12	0,046	0,193
	Ürik asit	<0,001	0,371
	ALP	0,044	0,196
	Albümin	0,014	-0,237
	LDH	0,02	0,226
	Total Kolesterol	0,009	0,253
	LDL	0,029	0,213
	Trigliserid	0,003	0,287

Aferez sayısı	Folat	0,02	0,220
Çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı	Lökosit	0,03	0,205
	ALT	0,014	0,235
İlk ürün CD34⁺ hücre sayısı	Folat	0,014	0,231
TNC	Fosfor	0,002	0,295
	Viabilite	0,003	0,321
TMNC	Viabilite	0,037	-0,233
CD3⁺ hücre sayısı	Platelet	0,034	0,201
	LDH	0,04	-0,196
	Fosfor	<0,001	0,366
	HDL	0,046	-0,190
Viabilite	Platelet	0,012	-0,277
	Vitamin B12	0,016	0,267
	ALP	0,041	-0,228
	Albümin	0,016	0,268
	Transferrin saturasyonu	0,029	0,243
Hemoglobin	Transferrin saturasyonu	<0,001	0,380
	BUN	0,041	0,194
	Kreatinin	<0,001	0,464
	Ürik asit	<0,001	0,357
	ALT	<0,001	0,332
	ALP	0,007	0,253
	Albümin	0,018	0,224
	Kalsiyum	0,001	0,323
	Trigliserid	0,028	0,209
Lökosit	Platelet	<0,001	0,388
	Ferritin	0,042	0,192
	BUN	0,015	0,231
	Ürik asit	0,003	0,283
	ALT	0,029	0,209
	ALP	<0,001	0,340
	HDL	<0,001	-0,441
	Trigliserid	<0,001	0,480
Platelet	Fosfor	0,031	0,205
	Total kolesterol	0,002	0,299
	LDL	0,002	0,288
	Trigliserid	0,031	0,205
CRP	ALP	<0,001	0,440
	Albümin	0,016	-0,253
	LDH	0,049	0,208
Transferrin	Ferritin	<0,001	0,484

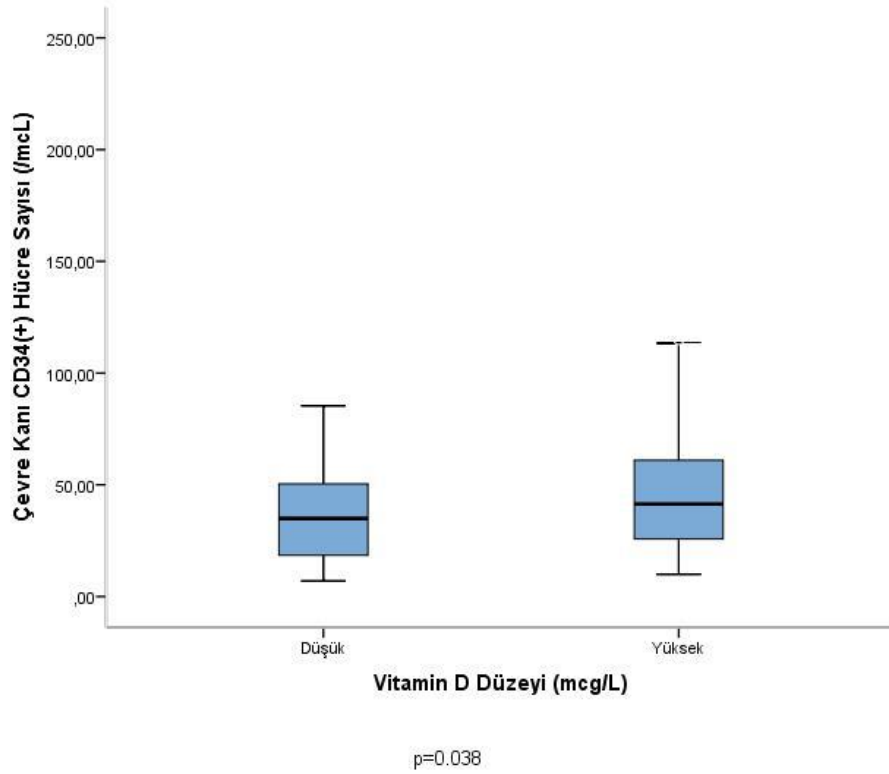
saturasyonu			
	Kreatinin	<0,001	0,353
	LDH	0,046	-0,190
Ferritin	ALT	<0,001	0,356
	Trigliserid	0,03	0,206
Vitamin B12	BUN	0,038	0,197
BUN	Kreatinin	<0,001	0,361
	Ürik asit	<0,001	0,344
	Trigliserid	0,027	0,210
Kreatinin	Ürik asit	<0,001	0,475
	Albümin	0,038	0,197
Ürik asit	ALP	0,031	0,205
	Kalsiyum	0,002	0,290
	HDL	<0,001	-0,335
	Trigliserid	0,026	0,211
ALT	ALP	0,011	0,243
	LDH	0,001	0,309
	HDL	<0,001	-0,328
	Trigliserid	<0,001	0,371
Albümin	Kalsiyum	<0,001	0,505

CRP: C-reaktif protein, ALP: alkalen fosfataz, , LDL: düşük yoğunluklu lipoprotein, TNC: total nükleuslu hücre, LDH: laktat dehidrogenaz, ALT: alanin amino transferaz, TMNC: total mononükleer hücre, BUN: kan üre nitrojeni, ALP: alkalen fosfataz, , HDL: yüksek yoğunluklu lipoprotein.

4.5.Alt Grup Analizleri

4.5.1. D Vitamini Temelli Alt Grup Analizleri

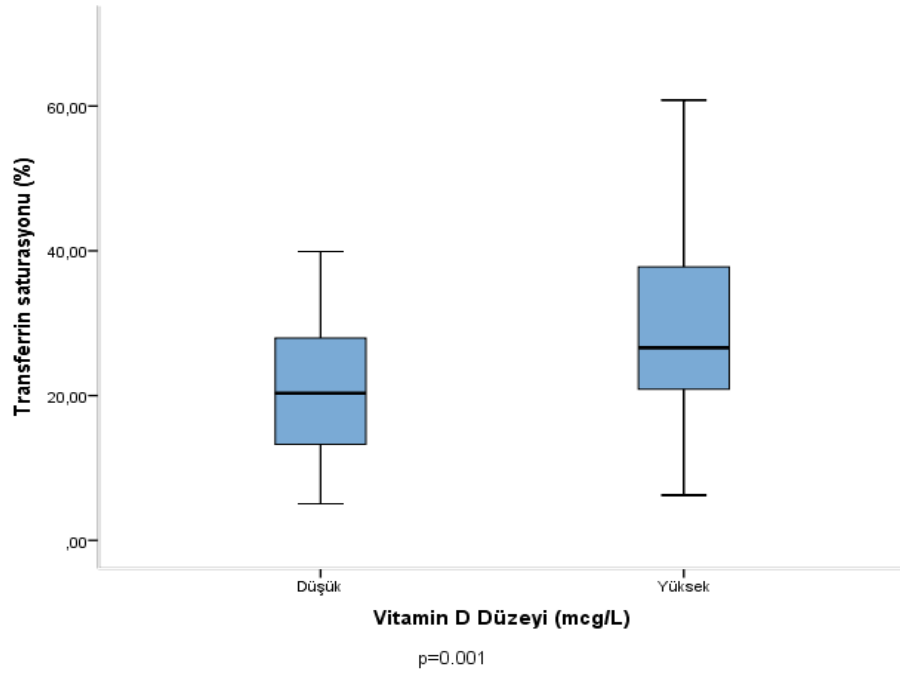
Çalışma grubu, ortalanca vitamin D değerine (15,8 mcg/L) göre ‘düşük’ ve ‘yüksek’ olarak iki alt gruba ayrıldığına; çevre kanı CD34⁺ hücre sayısının düşük vitamin D grubunda yüksek vitamin D grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı düşük olduğu görüldü [35(7-135) vs 41,4(10-206); p=0,038] (Şekil 8). İki grup arasında ürün CD34⁺, CD3⁺ hücre sayısı, TNC, TMNC, viabilite, aferez sayısı ve toplam G-CSF dozu açısından anlamlı farklılık izlenmedi (p>0,05).



Şekil 8. Düşük ve Yüksek D Vitamini Gruplarında Çevre Kanı CD34⁺ Hücre Sayılarının Karşılaştırılması

Yüksek vitamin D grubunda erkek verici sayısının anlamlı yüksek olduğu görüldü ($p<0,001$).

Transferrin saturasyonunun düşük vitamin D grubunda yüksek vitamin D grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı düşük olduğu görüldü [20,3(5,1-69,1) vs 26,6(6,2-65,7); $p=0,001$] (Şekil 9). Ferritin, düşük vitamin D grubunda anlamlı düşük [35,2(4-210,4) vs 63(5-531,4) ng/ml; $p=0,05$] saptandı. Hemogloblin, düşük vitamin D grubunda anlamlı düşüktü [13,8(10,4-16,6) vs 15(10,7-17,3) g/dl; $p=0,002$].



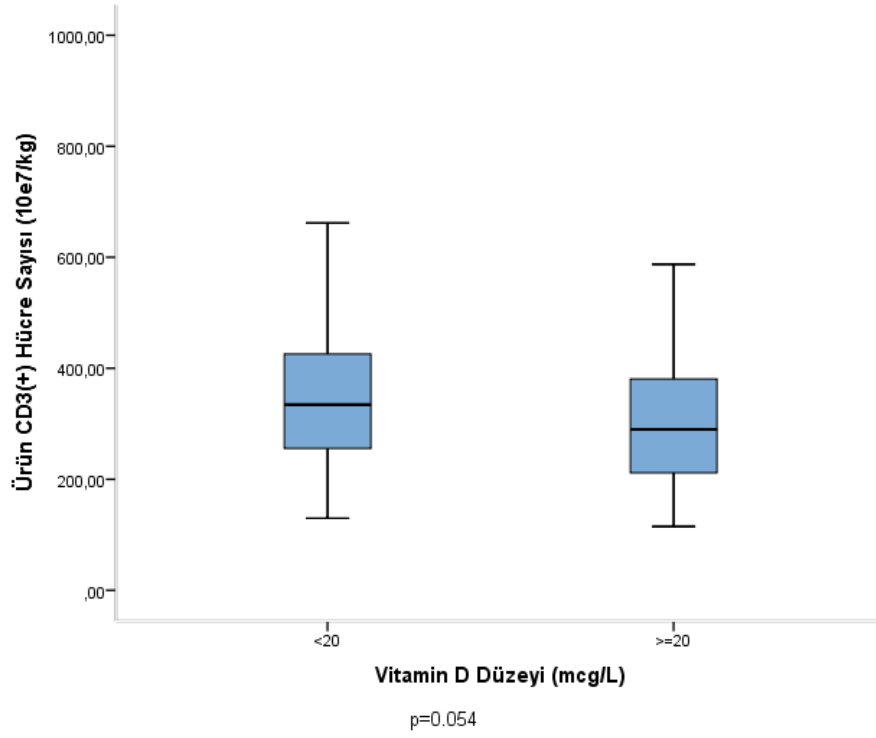
Şekil 9. Düşük ve Yüksek D Vitamini Gruplarının Transferrin Saturasyonu Açısından Karşılaştırılması

Tablo 11. Düşük ve Yüksek Vitamin D Gruplarının Karşılaştırmalı Değerlendirmesi

	Düşük vitamin D	Yüksek vitamin D	p değeri
Hemoglobin (g/dl)	13,8(10,4-16,6)	15(10,7-17,3)	0,002
Ferritin (ng/ml)	35,2(4-210,4)	63(5-531,4)	0,05
Transferrin saturasyonu (%)	20,3(5,1-69,1)	26,6(6,2-65,7)	0,001
Boy (cm)	164(148-184)	170(150-190)	<0,001

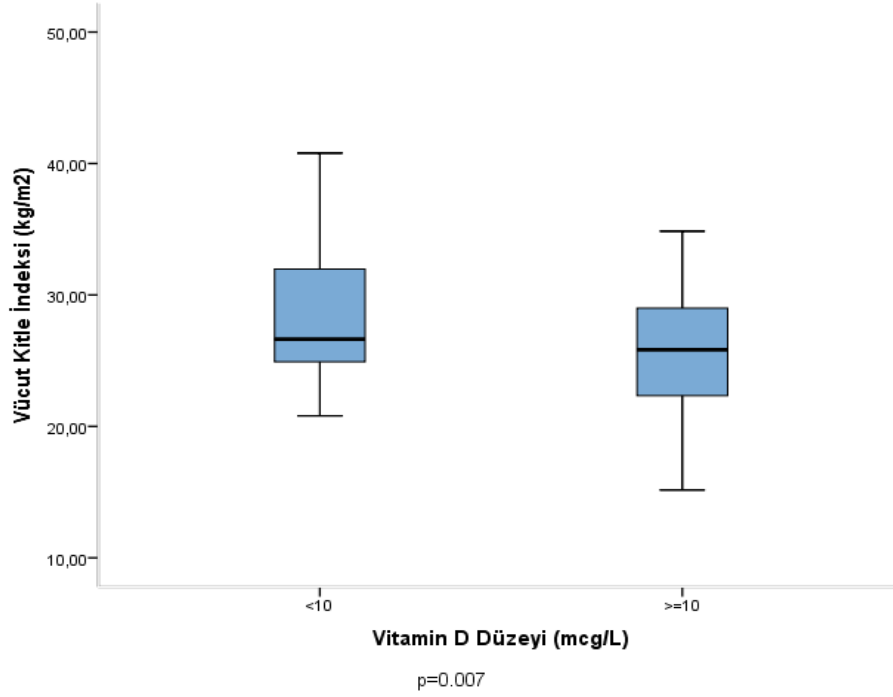
Ürün CD3⁺ hücre sayısının vitamin D düzeyi 20 mcg/L'nin altında olan vericilerde daha yüksek olduğu görüldü [334,3(130-928,4) vs 290(114,8-587,1) x10⁷/kg; p=0,054)] (Şekil 10). Toplama öncesi kreatinin değerinin vitamin D düzeyi 20 mcg/L'nin altında olan vericilerde anlamlı düşük olduğu [0,7(0,4-1,1)

vs 0,8(0,4-1) mg/dl; $p=0,015$], bu anlamlılığın vitamin D düzeyi 10 mcg/L'nin altında olan vericilerde daha güçlü olduğu gözlemlendi ($p=0,006$).



Şekil 10. Vitamin D Düzeyi Alt Gruplarında Ürün CD3⁺ Hücre Sayılarının Karşılaştırılması

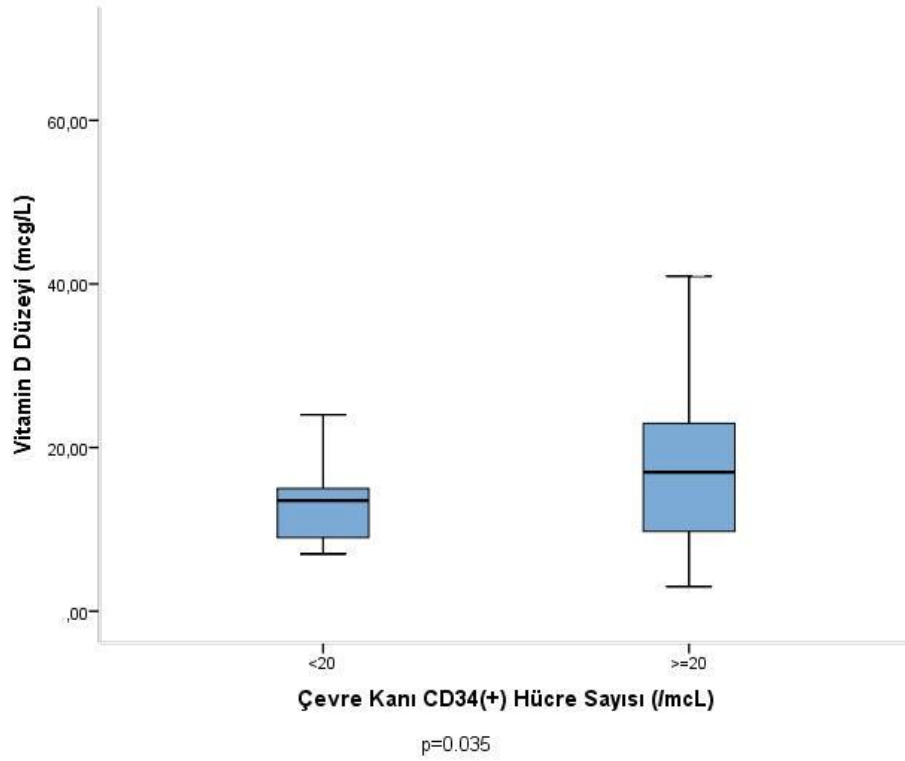
Vücut kitle indeksinin vitamin D düzeyi 10 mcg/L'nin altında olan vericilerde anlamlı yüksek olduğu gözlemlendi [26,6(20,8-50) vs 25,8(15,2-42) kg/m²; $p=0,007$] (Şekil 11).



Şekil 11. Vitamin D Düzeyi Alt Gruplarında Vücut Kitle İndeksinin Karşılaştırılması

4.5.2. Çevre Kanı CD34⁺ Hücre Sayılarına Göre Alt Grup Analizleri

Çalışma grubu, çevre kanı CD34⁺ hücre sayısına göre düşük (<20/mcL) ve yüksek (≥20/mcL) olarak iki alt gruba ayrıldığında; vitamin D düzeyinin düşük CD34⁺ grubunda, yüksek grup ile karşılaştırıldığında anlamlı düşük olduğu görüldü [13,5(7-27,4) vs 17(3-63,2) mcg/L; p=0,035] (Şekil 12). Yapılan alt grup analizinde erkek vericilerde düşük CD34⁺ grubunda vitamin D düzeyi anlamlı düşük iken [13,9(7-17,3) vs 20,3(4,1-63,2) mcg/L; p=0,031]; kadın vericilerde düşük ve yüksek CD34⁺ grupları arasında vitamin D düzeyi açısından farklılık gözlenmedi (p>0,05).



Şekil 12. Çevre Kanı CD34⁺ Hücre Gruplarının Vitamin D Düzeyleri Açısından Karşılaştırılması

Düşük CD34⁺ grubundaki hastaların daha düşük vücut ağırlığına sahip oldukları görüldü [66(35-98) vs 74,5(40-120) kg; p=0,016]. Düşük CD34⁺ grubundaki vericilerde VKİ anlamlı düşüktü [24,2(15,2-33,2) vs 26,6(17,8-50) kg/m²; p=0,029].

Vitamin D düzeyinin çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı üzerine etkili olduğu görüldü [p=0,042; SE: 0,034; 95% CI Exp(B): 1,003-1,145]. Çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı üzerine etkili bulunan diğer faktörler; vücut ağırlığı: [p=0,019; SE: 0,019; 95% CI Exp(B): 1,007-1,086] ve vücut kitle indeksi: [p=0,03; SE: 0,058; 95% CI Exp(B): 1,012-1,272] idi.

4.5.3. İlk Ürün CD34⁺ Hücre Sayılarına Göre Alt Grup Analizleri

Çalışma grubu, ilk aferez ürün CD34⁺ hücre sayısı ortanca değerine göre düşük (<5,3x10⁶/kg) ve yüksek (≥5,3x10⁶/kg) olarak iki alt gruba ayrıldığında; vitamin D düzeyi iki grup arasında benzer bulundu (p>0,05), yapılan alt grup analizinde kadın ve erkek vericiler arasında vitamin D düzeyi açısından farklılık gözlenmedi (p>0,05). Vitamin D düzeyinin ilk ürün CD34⁺ hücre sayısı üzerine etkisinin olmadığı gösterildi (p>0,05).

Boy, düşük CD34⁺ grubunda anlamlı kısa idi [165(148-183) vs 169(148-190) cm; p=0,048].

Vücut ağırlığı, düşük CD34⁺ grubunda anlamlı düşüktü [71(35-106) vs 77(52-120) kg; p=0,041].

Folat, düşük CD34⁺ grubunda anlamlı yüksekti [9,4(4-22,4) vs 7,6(3,2-19,3) ng/ml; p=0,02].

Fosfor, düşük CD34⁺ grubunda anlamlı yüksek [3,4(2,2-4,6) vs 3,2(2,4-4,5) mg/dl; p=0,031] saptandı.

Tablo 12. Düşük ve Yüksek İlk Ürün CD34⁺ Hücre Gruplarının Karşılaştırmalı Değerlendirmesi

	Düşük ilk ürün CD34 ⁺ hücre	Yüksek ilk ürün CD34 ⁺ hücre	p değeri
Boy (cm)	165(148-183)	169(148-190)	0,048
Vücut ağırlığı (kg)	71(35-106)	77(52-120)	0,041
Folat (ng/ml)	9,4(4-22,4)	7,6(3,2-19,3)	0,02
Fosfor (mg/dl)	3,4(2,2-4,6)	3,2(2,4-4,5)	0,031

4.5.4. Toplam Ürün CD34⁺ Hücre Sayılarına Göre Alt Grup Analizleri

Çalışma grubu, toplam ürün CD34⁺ hücre sayısına göre düşük (<5x10⁶/kg) ve yüksek (≥5x10⁶/kg) olarak iki alt gruba ayrıldığında; vitamin D düzeyi iki grup arasında benzer bulundu (p>0,05), yapılan alt grup analizinde kadın ve erkek vericiler arasında vitamin D düzeyi açısından farklılık gözlenmedi (p>0,05). Vitamin D düzeyinin toplam ürün CD34⁺ hücre sayısı üzerine etkisinin olmadığı gösterildi (p>0,05).

Düşük CD34⁺ grubunda fosfor düzeylerinin anlamlı yüksek [3,6(3-4,6) vs 3,3(2,2-4,6) mg/dl; p=0,044] ve HDL değerinin anlamlı yüksek [51,8(31,4-85,8) vs 45,4(26,4-86,8) mg/dl; p=0,047] olduğu görüldü.

4.5.5. Verici Yaşı Temelli Alt Grup Analizleri

Çalışma grubu yaşa göre (40 yaş altı/üstü veya 50 yaş altı/üstü) şeklinde alt gruplara ayrıldığında; gruplar arasında çevre kanı (p>0,05), ilk ürün (p>0,05) ve toplam ürün CD34⁺ hücre sayıları (p>0,05) ve vitamin D düzeyi (p>0,05) açısından anlamlı farklılık saptanmadı.

Vitamin B12 düzeyi, 50 yaş altı bireylerde anlamlı düşüktü [248,5(111,5-777) vs 281(95-1616) pg/ml; p=0,007].

Lökosit sayısı, 50 yaş altı bireylerde anlamlı düşüktü [6,7(3,8-13,1) vs 7,4(4,6-12,3) (x10³/ul); p=0,035].

Alkalen fosfataz, 50 yaş altı bireylerde anlamlı düşüktü [76(34-151) vs 90(54-170) U/L; p=0,004].

Laktat dehidrogenaz, 50 yaş altı bireylerde anlamlı düşüktü [186,8(113-298) vs 202,5(133-309,1) U/L; p=0,01].

C-reaktif protein, 50 yaş altı bireylerde anlamlı düşük [2,6(1-15,7) vs 4,3(1,8-37,3) mg/L; p=0,001] saptandı.

Tablo 13. Verici Yaşı Alt Gruplarının Karşılaştırmalı Değerlendirmesi

	50 yaş altı	50 yaş üstü	p değeri
Vitamin B12 (pg/ml)	248,5(111,5-777)	281(95-1616)	0,007
Lökosit ($\times 10^3$ /ul)	6,7(3,8-13,1)	7,4(4,6-12,3)	0,035
Alkalen fosfataz (U/L)	76(34-151)	90(54-170)	0,004
Laktat dehidrogenaz (U/L)	186,8(113-298)	202,5(133-309,1)	0,01
C-reaktif protein (mg/L)	2,6(1-15,7)	4,3(1,8-37,3)	0,001

4.5.6. C-Reaktif Protein Temelli Alt Grup Analizleri

Çalışma grubu CRP referans değeri (5 mg/L) temel alınarak iki alt gruba ayrıldığında; gruplar arasında çevre kanı (p>0,05), ilk ürün (p>0,05) ve toplam ürün CD34⁺ hücre sayıları (p>0,05) ve vitamin D düzeyi (p>0,05) açısından anlamlı farklılık saptanmadı. Ürün viabilite oranı, yüksek CRP grubunda daha düşüktü [97,5(64,8-100) vs 98,2(71,4-100); p=0,056].

Vücut kitle indeksi, yüksek CRP grubunda anlamlı yüksekti [32(18,7-49,9) vs 24,6(15,1-33,1) kg/m²; p<0,001].

Alkalen fosfataz, yüksek CRP grubunda anlamlı yüksekti [103(54-170) vs 73(34-151) U/L; p<0,001].

Albümin, yüksek CRP grubunda anlamlı düşüktü [4,7(3,9-5,4) vs 4,4(4-5,1) g/dl; p=0,002].

Laktat dehidrogenaz, yüksek CRP grubunda anlamlı yüksekti [187(113-298) vs 214(177-307) U/L; p=0,004].

Trigliserid, yüksek CRP grubunda anlamlı yüksekti [143,4(63,8-446) vs 102(41,4-521,9) mg/dl; p=0,034].

Yaş, yüksek CRP grubunda anlamlı yüksekti [53(33-62) vs 35(18-61); p<0,001].

Tablo 14. C-Reaktif Protein Alt Gruplarının Karşılaştırmalı Değerlendirmesi

	C-reaktif protein <5 mg/L	C-reaktif protein ≥5 mg/L	p değeri
Vücut kitle indeksi (kg/m²)	24,6(15,1-33,1)	32(18,7-49,9)	<0,001
Alkalen fosfataz (U/L)	73(34-151)	103(54-170)	<0,001
Albümin (g/dl)	4,7(3,9-5,4)	4,4(4-5,1)	0,002
Laktat dehidrogenaz (U/L)	187(113-298)	214(177-307)	0,004
Trigliserid (mg/dl)	102(41,4-521,9)	143,4(63,8-446)	0,034
Yaş (yıl)	35(18-61)	53(33-62)	<0,001

4.5.7. Transferrin Saturasyonu Temelli Alt Grup Analizleri

Çalışma grubu transferrin saturasyonu (%15) temel alınarak iki alt gruba ayrıldığında; gruplar arasında çevre kanı (p>0,05), ilk ürün (p>0,05) ve toplam

ürün CD34⁺ hücre sayıları ($p>0,05$) ve vitamin D düzeyi ($p>0,05$) açısından anlamlı farklılık saptanmadı. Ürün viabilite oranı, düşük transferrin saturasyonu grubunda anlamlı düşüktü [93,7(64,8-100) vs 96,4(65,5-100); $p=0,03$].

Kreatinin, düşük transferrin saturasyonu grubunda anlamlı düşüktü [0,7(0,4-0,8) vs 0,8(0,4-1,1) mg/dl; $p<0,001$].

Ürik asit, düşük transferrin saturasyonu grubunda anlamlı düşüktü [3,9(2,5-6,7) vs 5,1(2,5-8,2) mg/dl; $p=0,002$].

Alanin amino transferaz, düşük transferrin saturasyonu grubunda anlamlı düşüktü [15,5(8-33) vs 20(5-104) U/L; $p=0,018$].

Kalsiyum, düşük transferrin saturasyonu grubunda anlamlı düşüktü [9,4(8,8-10,1) vs 9,6(8,7-10,5) mg/dl; $p=0,013$].

Total kolesterol, düşük transferrin saturasyonu grubunda anlamlı düşüktü [165,3(124-287) vs 193,8(120,9-331) mg/dl; $p=0,037$].

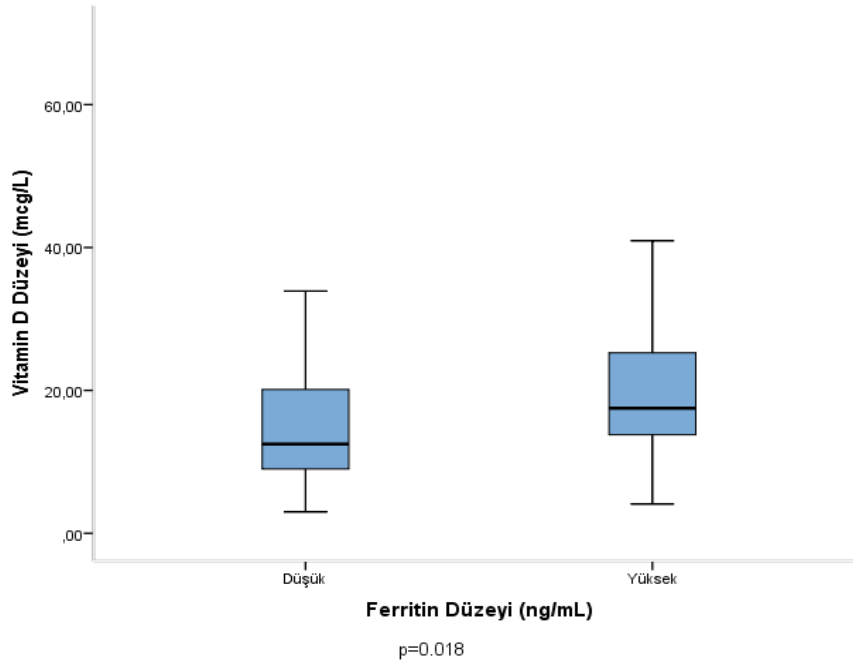
Tablo 15. Transferrin Saturasyonu Alt Gruplarının Karşılaştırmalı Değerlendirmesi

	Transferrin saturasyonu (%) <15	Transferrin saturasyonu (%) ≥15	p değeri
Kreatinin (mg/dl)	0,7(0,4-0,8)	0,8(0,4-1,1)	<0,001
Ürik asit (mg/dl)	3,9(2,5-6,7)	5,1(2,5-8,2)	0,002
Alanin amino transferaz (U/L)	15,5(8-33)	20(5-104)	0,018
Kalsiyum (mg/dl)	9,4(8,8-10,1)	9,6(8,7-10,5)	0,013
Total kolesterol (mg/dl)	165,3(124-287)	193,8(120,9-331)	0,037

Albümin, transferrin saturasyonu %20'nin altında olan bireylerde anlamlı düşük [4,5(3,9-5,1) vs 4,6(3,9-5,4) g/dl; p=0,042]; CRP değeri, transferrin saturasyonu %20'nin altındaki bireylerde anlamlı yüksekti [3,5(1,1-37,3) vs 2,8(1-15,1) mg/L; p=0,028)].

4.5.8. Ferritin Temelli Alt Grup Analizleri

Çalışma grubu ortanca ferritin değerine (45,2 ng/ml) göre iki alt gruba ayrıldığında; vitamin D düzeyinin düşük ferritin grubunda anlamlı düşük olduğu gösterildi [12,5(3-52) vs 17,5(4,1-63,2) mcg/L; p=0,018] (Şekil 13). Vitamin D değeri ferritin değeri 30 ng/ml'nin altındaki bireylerde anlamlı düşük bulundu (p=0,036). Ürün viabilite oranı, ferritin değeri 30 ng/mL'nin altındaki bireylerde anlamlı düşük bulundu [93,3(64,8-100) vs 97,9(65,5-100); p=0,025].



Şekil 13. Düşük ve Yüksek Ferritin Alt Gruplarında D Vitamini Düzeylerinin Karşılaştırılması

Lökosit sayısı, düşük ferritin grubunda anlamlı düşüktü [6,8(3,8-11,1) vs 7,2(4,4-13,1) $\times 10^3$ /ul; p=0,043].

Kreatinin, düşük ferritin grubunda anlamlı düşüktü [0,7(0,4-1,1) vs 0,8(0,4-1,1) mg/dl; p=0,002].

Ürik asit, düşük ferritin grubunda anlamlı düşüktü [4,7(2,5-8,2) vs 5,1(2,7-8,1) mg/dl; p=0,013].

Alanin amino transferaz, düşük ferritin grubunda anlamlı düşüktü [18(5-46) vs 21(6-104) U/L; p=0,005].

Yüksek yoğunluklu lipoprotein, düşük ferritin grubunda anlamlı yüksekti [48,8(30,5-85,8) vs 43,6(26,4-86,8) mg/dl; p=0,027].

Çok düşük yoğunluklu lipoprotein, düşük ferritin grubunda anlamlı düşük [18,8(8,3-70,5) vs 27,7(9,5-104,4) mg/dl; p=0,013] saptandı.

Tablo 16. Düşük ve Yüksek Ferritin Gruplarının Karşılaştırmalı Değerlendirmesi

	Düşük ferritin	Yüksek ferritin	p değeri
Lökosit ($\times 10^3$ /ul)	6,8(3,8-11,1)	7,2(4,4-13,1)	0,043
Kreatinin (mg/dl)	0,7(0,4-1,1)	0,8(0,4-1,1)	0,002
Ürik asit (mg/dl)	4,7(2,5-8,2)	5,1(2,7-8,1)	0,013
ALT (U/L)	18(5-46)	21(6-104)	0,005
HDL (mg/dl)	48,8(30,5-85,8)	43,6(26,4-86,8)	0,027
VLDL (mg/dl)	18,8(8,3-70,5)	27,7(9,5-104,4)	0,013

ALT: alanin amino transferaz, HDL: yüksek yoğunluklu lipoprotein, VLDL: çok düşük yoğunluklu lipoprotein

4.5.9. Vücut Kitle İndeksi Temelli Alt Grup Analizleri

Grup VKİ'ye göre iki alt gruba ayrıldığında (30 kg/m^2 altı / 30 kg/m^2 ve üstü); iki grup arasında çevre kanı CD34^+ ($p>0,05$), ürün CD34^+ ($p>0,05$), ürün CD3^+ hücre sayıları ($p>0,05$), ürün viabilite oranı ($p>0,05$) ve vitamin D değerleri ($p>0,05$) benzerdi.

C-reaktif protein, VKİ yüksek olan grupta anlamlı yüksekti [5,3(2-15,7) vs 2,53(1-37,3) mg/L; p=0,018].

Ferritin, VKİ yüksek olan grupta anlamlı yüksekti [64(14-531,4) vs 39,9(4-252) ng/ml; p=0,008].

Lökosit sayısı, VKİ düşük olan grupta anlamlı düşüktü [6,6(3,8-13,1) vs 8,3(5,9-12,3) $\times 10^3$ /ul; p<0,001].

Ürik asit, VKİ düşük olan grupta anlamlı düşüktü [4,8(2,5-7,9) vs 5,2(2,7-8,1) mg/dl; p=0,045].

Alanin amino transferaz, VKİ düşük olan grupta anlamlı düşüktü [18(5-62) vs 22(12-104) U/L; p=0,013].

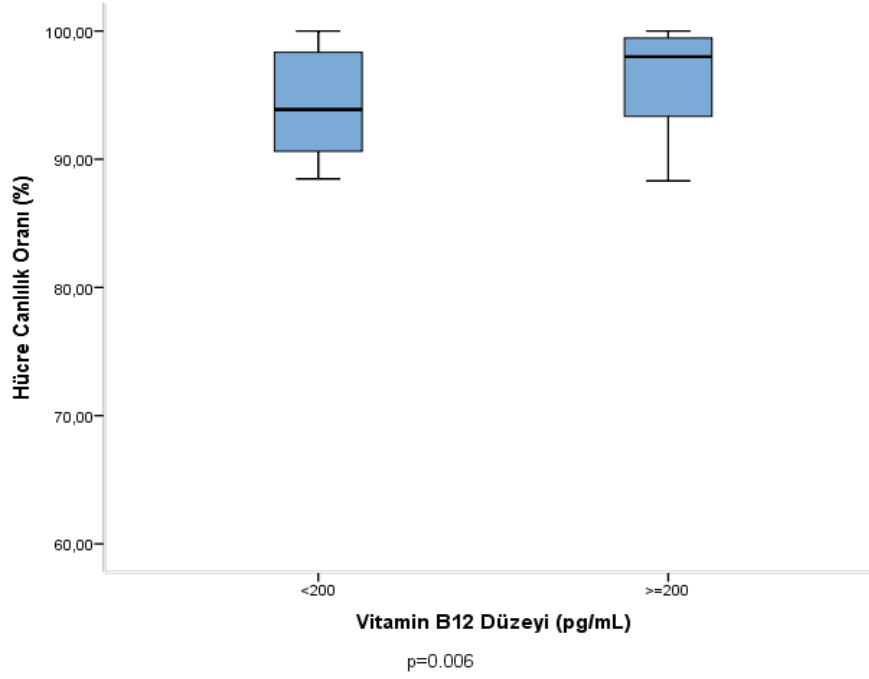
Albümin, VKİ düşük olan grupta anlamlı yüksekti [4,6(4-5,4) vs 4,4(3,9-5) g/dl; p=0,013].

Tablo 17. Vücut Kitle İndeksi Alt Gruplarının Karşılaştırmalı Değerlendirmesi

	Vücut kitle indeksi <30 kg/m ²	Vücut kitle indeksi ≥30 kg/m ²	p değeri
C-reaktif protein (mg/L)	2,53(1-37,3)	5,3(2-15,7)	0,018
Ferritin (ng/ml)	39,9(4-252)	64(14-531,4)	0,008
Lökosit (x10³/ul)	6,6(3,8-13,1)	8,3(5,9-12,3)	<0,001
Ürik asit (mg/dl)	4,8(2,5-7,9)	5,2(2,7-8,1)	0,045
Alanin amino transferaz (U/L)	18(5-62)	22(12-104)	0,013
Albümin (g/dl)	4,6(4-5,4)	4,4(3,9-5)	0,013

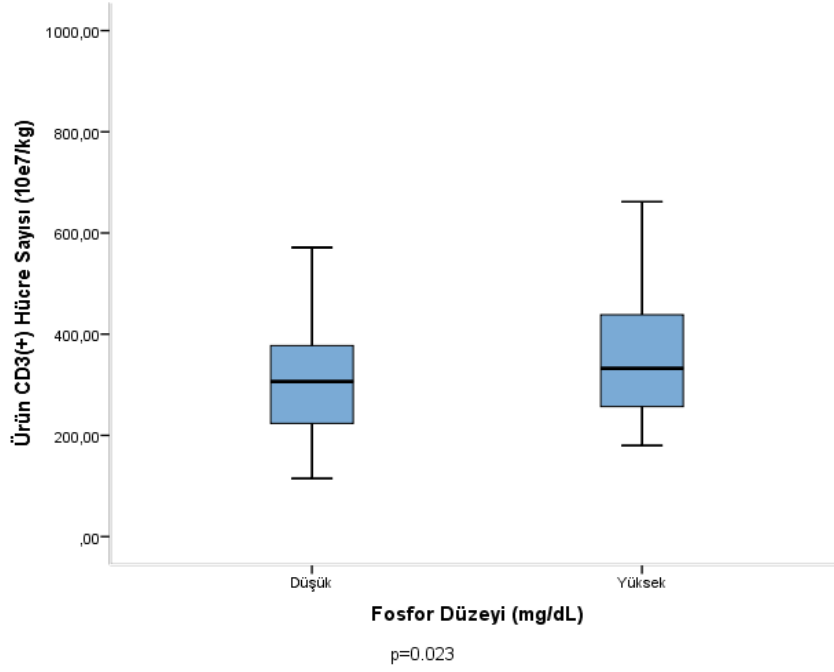
4.5.10. Diğer Alt Grup Analizleri

Ürün viabilite oranı, vitamin B12 düzeyi 200 pg/ml'nin altında olan bireylerde anlamlı düşük bulundu [93,9(64,8-100) vs 98(76,3-100); p=0,006] (Şekil 14).



Şekil 14. Vitamin B12 Alt Gruplarında Hücre Canlılık Oranlarının Karşılaştırılması

Fosfor değeri düşük olan bireylerde (ortanca değer olan 3,3 mg/dl'ye göre) ürün TNC [15,3(7,9-29) vs 17,2(7,2-37,9) $\times 10^8$ /kg; $p=0,031$] ve CD3⁺ hücre sayıları [306,4(114,8-571,2) vs 332,6(180-928,4) $\times 10^7$ /kg; $p=0,023$] anlamlı düşük saptandı (Şekil 15).



Şekil 15. Düşük ve Yüksek Fosfor Gruplarında Ürün CD3⁺ Hücre Sayılarının Karşılaştırılması

Fosfor düzeyinin toplam ürün CD34⁺ hücre sayısı üzerine etkili olduğu gösterildi [p=0,049; SE: 0,636; 95% CI Exp(B): 0,082-0,996].

5. TARTIŞMA

Bu geriye dönük çalışmada, allojeneik kök hücre vericilerinin D vitamini düzeyinin HKH mobilizasyonu üzerine olan olası etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmanın sonucunda, mobilizasyon öncesi 25-hidroksi vitamin D düzeyinin, G-CSF 4. gününde bakılan çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı üzerine etkili olduğu gösterildi. Öte yandan, verici D vitamini düzeyinin ilk ürün ve toplam ürün CD34⁺ hücre sayısı, CD3⁺ hücre sayısı, TNC, TMNC ve ürün viabilitesi ile anlamlı ilişkisinin olmadığı gösterildi.

Yapılan hayvan deneyleri ve in vitro çalışmalarda D vitamininin kök hücre mobilizasyonu üzerine olumlu etkisinin olabileceğine yönelik bazı veriler ve değerlendirmeler mevcut olmakla birlikte, bu konuda insanlar üzerinde yapılmış klinik çalışma bulunmamaktadır (24, 25, 84). Çalışmamız, D vitamini düzeyinin kök hücre mobilizasyonu üzerine olası etkisini değerlendirmek amacıyla allojeneik kök hücre vericileri üzerinde yapılan ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır.

Allojeneik KHN’de hematopoietik yeniden yapılanmanın sağlanabilmesi için çevre kanına yeterli sayıda hematopoietik öncül hücre geçişi olmalıdır. Alıcıya yetersiz sayıda CD34⁺ hücre infüze edilmesi engraftman gecikmesine neden olmakta, NİM oranını artırmaktadır (4, 5, 7, 8, 148, 188). Günümüzde mobilizasyon yetmezliği/başarısızlığı AKHN sürecinde halen önemli bir sorun olma özelliğini korumaktadır. Bu nedenle, uygun verici seçimi ve kök hücre mobilizasyon başarısının artırılması hayati önem taşımaktadır.

Allojeneik KHN’de mobilizasyon yetmezliğinin %2-30 arasında değişebildiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (4, 66, 188-190). Bu geniş dağılımın nedeni çalışmalarda hedef ürün CD34⁺ eşik değerlerinin farklı olması olabilir. Teipel ve arkadaşlarının 7216 akraba dışı sağlıklı vericiyi inceleyen çalışmasında, başarılı mobilizasyon için ilk aferez günü elde edilen ürün CD34⁺ hücre sayısının 2x10⁶/kg, toplam ürün CD34⁺ hücre sayısının ise 4,5x10⁶/kg üzerinde olması esas alınmıştır. Çalışmada %91 vericide bu hedeflere ulaşıldığı belirtilmiştir (4). Ings ve arkadaşlarının 400 vericiyi inceleyen çalışmasında, ürün için hedef CD34⁺ hücre sayısı 4x10⁶/kg olarak belirlenmiş; ilk aferez gününde %63 vericide, 2 aferez günü sonunda %81 vericide hedefe ulaşıldığı belirtilmiştir. CD34⁺ hücre sayısı %2 vericide 2x10⁶/kg’ın altındadır (6). Bailén ve arkadaşlarının çalışmasında ise, ilk aferez gününde 2x10⁶/kg CD34⁺ hücre sayısına %86 vericide, 4x10⁶/kg hücre sayısına %55 vericide ulaşılmıştır (189). Yaygın görüş, naklin yapılabilmesi için 2x10⁶/kg ürün CD34⁺ hücre sayısının minimum eşik değeri olarak kabul edilmesidir (4, 6, 7, 11, 35, 66). Çalışmamızda ilk aferez günü ürün CD34⁺ hücre sayısı 2x10⁶/kg altında olan %9,8 verici mevcuttur. Toplam ürüne bakıldığında ise sadece 1 vericide (%0,9) 2x10⁶/kg hücre sayısına ulaşamamıştır. Üç kez aferez işlemine alınan 4 verici (%3,6) mevcuttur. Çalışmamızda mobilizasyon başarısızlığının literatürle karşılaştırıldığında daha az sıklıkta olduğu görülmektedir.

Mobilizasyon sonrası ve aferez öncesinde ölçülen çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı, ürün CD34⁺ hücre miktarını tahmin etmede kullanılan en önemli belirleyicidir (9, 11, 130-134, 191). Yapılan çalışmalarda aferez öncesi çevre kanı

CD34⁺ hücre sayısı için farklı eşik değerleri kullanılmıştır. Armitage ve arkadaşlarının çalışmasında, çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı 20/mcL üzeri olduğunda, %94 vericide üründe 2×10^6 /kg üzeri CD34⁺ hücre sayısına ulaşılmıştır (131). Suzuya ve arkadaşlarının çalışmasında, çevre kanı CD34⁺ hücre sayısının 20/mcL'nin altında olması mobilizasyon başarısızlığı olarak tanımlanmış, 59 vericinin 5'inde bu değerin altında kalınmıştır (9). Bailén ve arkadaşlarının çalışmasında, G-CSF 5. gününde çevre kanı CD34⁺ hücre sayısının 20/mcL'nin altında olması ve/veya $3,5 \times 10^6$ /kg ürün CD34⁺ hücre sayısına ulaşmak için en az 3 aferez işleminin gerekmesi mobilizasyon başarısızlığı olarak tanımlanmıştır. Bu bağlamda mobilizasyon başarısızlığı %10 oranında saptanmış, 3 aferez işlemi %5 vericide gerekli görülmüştür (189). Farklı bir çalışmada, çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı için ortalama değer 46/mcL olarak hesaplanmıştır (192). Sohn ve arkadaşlarının çalışmasında, ilk aferez günü hedeflenen 4×10^6 /kg ürün CD34⁺ hücre sayısına %77,2 vericide ulaşıldığı, çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı 40/mcL'nin üzerinde olan vericiler için bu oranın %90,5 olduğu belirtilmiştir. Ortanca çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı ise 52,9/mcL saptanmıştır (133). Aferez işlemi başlatılması için CD34⁺ hücre sayısı eşik değeri genellikle 10/mcL kabul edilmektedir (134-136). Çalışmamızda, 20/mcL hücre sayısı istatistiksel analiz için düşük ve yüksek çevre kanı CD34⁺ hücre alt gruplarını oluşturmada kullanılmış ve bu sınırı belirlerken önceki çalışmalar referans olarak alınmıştır (9, 131, 189). Ortanca çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı 36,5/mcL olarak hesaplanmıştır. Çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı %3,6 vericide 10/mcL'nin altında iken, %17,9 vericide 20/mcL'nin altında saptanmıştır. Çalışmamızda elde edilen

çevre kanı CD34⁺ hücre sayısının diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durum mobilizasyon başarısının nesnel olarak değerlendirilmesinde güçlük yaratmaktadır. Yapılan çalışmalarda çevre kanı CD34⁺ hücre sayımı genellikle G-CSF'in 5. gününde yapılırken, çalışmamızda G-CSF'nin 4. gününde yapılmıştır (9, 66, 133, 189). Çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı G-CSF'nin 4. ve 5. günlerinde tepe değerine ulaşmakla birlikte, 5. günde yapılan ölçümlerde kısmen daha yüksek değerler görülebilir (9, 11, 127, 190).

Reddy ve arkadaşlarının çalışmasında HKH vericilerinin %10'unda santral venöz erişim gerektiği belirtilmiştir (10). Machaczka ve arkadaşlarının çalışmasında %96 vericide işlem için periferik venler kullanılmıştır (192). Farklı bir çalışmada vericilerin %10-30'unda santral kateter gerektiği ifade edilmiştir (193). Lysák ve arkadaşlarının çalışmasında allojeneik vericilerin %32'sinde işlem için santral kateter kullanılmıştır (194). Çalışmamızda santral kateter kullanılan verici oranı literatürde verilen oranların üzerinde (%49,1) saptandı. Bu durumu açıklayabilecek olası teknik nedenlerin dışında, ileri yaş, kadın cinsiyet ve yüksek VKİ gibi vericilere ait özellikler çalışma popülasyonunda literatürden belirgin farklılık göstermemekteydi.

Kemiğin yapısını oluşturan hücrelerle kemik iliği mikroçevresi arasında karşılıklı etkileşim mevcuttur. Osteoblastlar HKH'lerin niş alanına yerleşmesinde ve engraftmanında etkili olan anjiyopoietin-1, CXCL12 gibi adezyon molekülleri salgırlar. Böylelikle osteoblastların HKH'lerin çevre kanına mobilizasyonunu olumsuz yönde etkilediği düşünülmektedir (36, 66, 74). Yapılan çalışmalarda G-CSF uygulamasının osteoblast aktivitesini azalttığı gösterilmiştir. Osteoblast

belirteçlerinden olan osteokalsin G-CSF sonrası azalmaktadır. Ayrıca uzun dönem G-CSF uygulaması osteopeni gelişimiyle ilişkili bulunmuştur (24, 81, 195). Farklı olarak, Ding ve arkadaşlarının çalışmasında CXCL12 delesyonu perivasküler stromal hücrelerde HKH mobilizasyonunu artırırken, aynı etki osteoblastlarda izlenmemiştir. Çalışmanın sonucunda CXCL12'nin esas olarak perivasküler stromal hücrelerde ifadelendiği tespit edilmiştir (196). Osteoblastlar HKH havuzunu olumsuz yönde etkileyen osteopontin de salgılamaktadır (36, 75, 76). Bazı çalışmalarda ise osteoblastların HKH'lerin kendini yenilemesini sağlayan sinyal yollarını desteklediği gösterilmiştir (35, 36).

Osteoklastlar hematopoietik kökenli hücrelerdir. Osteoklastların proteolitik enzimler salgılayarak ve adezyon faktörlerini inhibe ederek kök hücre mobilizasyonunu destekledikleri öne sürülmüştür (79, 196). Ancak bunun aksini gösteren çalışmalar da mevcuttur (81, 197). Takamatsu ve arkadaşlarının çalışmasında farelere G-CSF verilmesi sonrasında HKH mobilizasyonu ile eş zamanlı olarak osteoklast aracılı kemik rezorpsiyonunda artış izlenmiştir. Öte yandan, pamidronat verilerek kemik rezorpsiyonu inhibe edildiğinde HKH mobilizasyonu azalmamıştır. Granülosit-koloni stimüle edici faktör ile kemik rezorpsiyonunun uyarılmasının HKH mobilizasyonuna katkıda bulunmadığı, G-CSF sonrası rezorpsiyonun mobilizasyonla eş zamanlı gerçekleşen bir durum olduğu düşünülmüştür (81). Rao ve arkadaşlarının çalışmasında RANKL inhibitörü verilerek osteoklastların baskılanması sağlanmıştır; ancak sonrasında HKH mobilizasyonunda azalma görülmemiştir (197). Asada ve arkadaşlarının osteositlerin HKH'lere etkisini değerlendiren çalışmasında, osteositlerin ortamdan

kaldırılması sonrasında kemik iliğindeki HKH sayısında azalma olmadığı, ancak G-CSF aracılı HKH mobilizasyonunun bozulduğu görülmüştür (83). Kemik yapısındaki hücrelerin oluşturduğu bu bağlantılar, kemik yapı ile kemik iliği hematopoezi arasında yakın ilişki olduğunu düşündürmektedir (36). Bu bağlamda kemik metabolizması üzerine görevli hormonların da bu etkileşime katılabileceği öne sürülebilir. Parathormonun hematopoietik büyüme faktörleri salgılayan osteoblastları aktive ettiği ve böylelikle HKH sayısını artırdığı gözlenmiştir (5, 140, 198). Weber ve arkadaşlarının çalışmasında PTH'nın Jagged1 (NOTCH ligandı) ifadenmesini artırdığı saptanmıştır. NOTCH sinyal yolağı HKH havuzunu olumlu yönde etkilemektedir (198). Brunner ve arkadaşlarının çalışmasında PTH ve G-CSF'nin farelerde HKH mobilizasyonuna etkisi karşılaştırılmıştır. Parathormon uygulaması, G-CSF'ye benzer oranda çevre kanı HKH'lerini 1,5-9,8 kat artırmıştır. İlginç olarak, PTH sonrası G-CSF'nin serum seviyesi 2,8 kat yükselmiştir. Endojen G-CSF'ye yönelik antikor verildiğinde PTH'nın mobilizasyona olumlu etkisi azalmıştır. Böylelikle, PTH'nın HKH mobilizasyonunu endojen G-CSF salınımı üzerinden desteklediği düşünülmüştür (199). Ballen ve arkadaşlarının yaptığı Faz 1 çalışmada, daha önce mobilizasyon başarısızlığı olan otolog KHN adayı hastalara PTH ve G-CSF verilmiş, PTH'nın G-CSF ile birlikte kullanımının HKH mobilizasyonunu olumlu yönde etkilediği görülmüştür (140).

Aktif D vitamini, kemik ve kalsiyum metabolizmasının yanı sıra birçok fizyolojik olayda da rol almaktadır. Eksikliği Türkiye'de ve dünyada yaygın olarak görülmektedir (12-15, 153, 157, 159). D vitamini eksikliği görülme oranı

Kuzey Amerika ülkeleri ve Avrupa’da %20-80 arasında değişmektedir (12, 14). Ülkemizde de D vitamini eksikliği sık görülmektedir. D vitamini düzeyi güneş ışınlarına bağlı olarak mevsimsel değişiklik göstermektedir. Manisa’da kış mevsimi sonunda yapılan bir çalışmada ortalama D vitamini düzeyi 16,9 mcg/L hesaplanmış; D vitamini eksikliği kadınlarda %78,7, erkeklerde %66,4 oranında izlenmiştir (13). Bu konuda yapılan diğer çalışmalar da daha çok gebelerde yapılan çalışmalardır (159, 200, 201).

D vitamini eksikliği prevalansının yüksek olduğu ülkemizde, sağlıklı kök hücre vericilerinde de eksikliğin sık görülebileceği öngörülebilir. Çalışmamızda sağlıklı kök hücre vericilerinde ortalama D vitamini düzeyi 15,8 mcg/L idi. Kadın vericilerde D vitamini düzeyi erkek vericilere göre anlamlı düşük saptandı. Sonuçlar analiz edilirken mevsimsel değişiklikler göz önüne alınmamıştır. Çalışmamızda literatürle benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Bu sonuçlar, ülkemizde özellikle kadınlarda D vitamini eksikliğinin önemli seviyede olduğu gerçeğini desteklemektedir.

Obezite D vitamini eksikliği için risk faktörlerinden biridir. Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak D vitamini 10 mcg/L altında olan grupta VKİ yüksek saptandı. D vitamini yağda eriyen vitaminlerdendir. D vitamininin yağ dokusunda depolanması ve kalsiyum aracılı mekanizmayla adipositlerin apoptozunu aktive etmesi bu duruma katkıda bulunabilir (16, 202-204). Bu ters ilişkinin diğer bir nedeni de sedanter/kapalı ortamda yaşam olabilir (202, 203).

Aktif D vitamini VDR'ye bağlanarak etki gösterir. Hematopoietik öncül ve olgun hücrelerde de VDR'nin bulunduğu anlaşılmıştır, D vitamininin hematolojik ve immün sistem üzerine olan olası etkileri araştırma konusu olmuştur (17, 25, 172, 173). D vitamininin immün yanıtın düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (17, 150, 152, 181-184). Vitamin D reseptörünün dendritik hücrelerde bulunduğu, T lenfositlere antijen sunumunu baskıladığı ve böylelikle immün toleransta etkili olduğu düşünülmektedir (152, 181-183). D vitamini analoglarının otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği öne sürülmüştür (17, 186). Yapılan çalışmalar D vitamininin promyelositik lösemik hücre serilerinin ve normal hematopoietik öncül hücrelerin monosit/makrofaj yönünde olgunlaşmasını sağladığını göstermiştir (17, 150, 175, 176). Hayvan deneylerinde, VDR bulunmayan farelerde monosit/makrofaj yönünde farklılaşmanın bozulduğu gösterilmiştir (150).

Vitamin D reseptör geni insan popülasyonunda genetik varyasyonlar göstermektedir. Çalışmalarda VDR gen polimorfizmlerinin AKHN yapılan hastalara etkisi araştırılmıştır (22, 23, 187). AA genotipi düşük VDR aktivitesi, aa ve FF genotipi yüksek VDR aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir. Middleton ve arkadaşlarının çalışmasında vericideki AA genotipinin artmış NİM ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (22). Bogunia-Kubik ve arkadaşlarının çalışmasında alıcıdaki aa genotipinin mortaliteyi artırdığı, vericideki AA ve FF genotipinin akut GVHH gelişimiyle ilişkili olduğu saptanmıştır. Bundan dolayı, alıcı ve vericideki VDR gen polimorfizm incelemesinin prognoz tayininde kullanılabileceği öne

sürülmüştür. Ayrıca D vitamini analoglarının VDR aktivitesini etkileyerek nakil sonuçlarına olumlu katkıda bulunabileceği düşünülmüştür (23).

İmmün sistemi düzenleyici etkileri nedeniyle AKHN yapılan hastalarda D vitamininin etkisi değerlendirilmiştir (14, 20-23, 205). Von Bahr ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, AKHN alıcılarında nakil öncesi mevcut olan D vitamini eksikliğinin kronik GVHH ve CMV enfeksiyonu riskini artırdığı gösterilmiştir (20). Glotzbecker ve arkadaşlarının çalışmasında da D vitamini eksikliği olan alıcılarda kronik GVHH'nın daha sık geliştiği gösterilmiştir (14). Benzer şekilde, 2016 yılında yayınlanan ve AKHN yapılan hastalarda D vitamini replasmanının etkisini değerlendiren ileriye dönük bir çalışmada, D vitamini takviyesi yapılanlarda kronik GVHH oranlarının azaldığı görülmüş; ayrıca D vitamini verilen gruplarda (günlük 1000IU ve 5000 IU) hiperkalsemi de dahil olmak üzere ciddi bir yan etki gelişmediği belirtilmiştir (205). Allojeneik kök hücre nakli yapılanlarda D vitamini düzeyinin nakil sonuçlarına etkisini değerlendiren çalışmalar bulunmakla birlikte, literatürde allojeneik vericilerdeki D vitamini düzeylerinin mobilizasyon üzerine etkilerini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Mikrova ve arkadaşlarının çalışmasında, 18 sağlıklı gönüllüye iki hafta boyunca bitkisel ürünler, laktobasiller, beta 1,3 glukan ve D vitamini içeren beslenme ürünü (*Stem-Kine*) verilmiş ve çevre kanı CD34⁺ kök hücre sayısında artış olduğu görülmüştür (206). Ancak, bu çalışmada D vitamini takviyesi tek başına verilmediği için izole etkisinin değerlendirilmesi mümkün değildir.

Vitamin D reseptörü çıkarılmış (*VDR Knockout*) fareler üzerine 2002 yılında yapılan bir çalışmada, VDR bulunmayan farelerde normal hematopoezin devam edebildiği gösterilmiştir. Vitamin D reseptörü bulunduran farelere D vitamini verildiğinde D vitamininin VDR'ye bağlanarak p21 ve c-jun ifadenmesini artırdığı ve böylelikle monosit/makrofaj gelişimini desteklediği görülmüştür. Sonuç olarak, D vitamininin monosit ve makrofaj gelişimini sağlayabilmesi için VDR'nin gerekli olduğu; ancak sitokin uyarısı sonrası monosit/makrofaj farklılaşmasının VDR olmadan da gerçekleşebildiği anlaşılmıştır. Çalışmada VDR çıkarılmış farelerin makrofajlarında da normal seviyede p21 ifadenmesine rastlanmış, farklılaşma esnasında p21 ifadenmesini birden fazla transkripsiyonel düzenleyicinin kontrol ettiği düşünülmüştür (207).

Grande ve arkadaşlarının insan umbilikal kord kanı hücre kültürü kullanarak yaptıkları çalışmada, ortama suprafizyolojik dozda D vitamini eklendiğinde HKH'lerin monosit/makrofaj yönünde farklılaşması sağlanmıştır. Bu farklılaşma esnasında $CD34^{+} CD38^{-}$ hücre sayısı azalmıştır. Bu durumun $CD34^{+} CD38^{-}$ hücrelerin sırasıyla $CD34^{+} CD38^{+}$ ve $CD34^{-} CD38^{+}$ hücrelere farklılaşmasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Fizyolojik dozda D vitamini verildiğinde de benzer etkinin olduğu ancak bu etkinin daha düşük seviyede olduğu gözlenmiştir (208). D vitamini HKH çoğalmasını olumsuz yönde etkileyen osteopontin üretimini de uyarmaktadır (165, 169). Bu bulguların yanında, sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda D vitamininin HKH havuzunu ve mobilizasyonunu olumlu yönde etkileyebileceğini düşündüren bulgular elde edilmiştir (24, 25, 84).

Nagayoshi ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada, osteoblastik hücre serilerinin cilt altına enjeksiyonu sonrası solid kemik nodüllerinin oluştuğu görülmüştür. Bu ektopik nodüllerin büyüklüğünün enjekte edilen hücre sayısı ile korele olduğu, sonraki 3-5 hafta içerisinde kemik iliği yapısının şekillendiği ve ektopik dokuda hematopoezin başladığı saptanmıştır. Bu bulgu osteoblastların hematopoez üzerine olan olumlu etkilerini desteklemektedir. Çalışmada çevre kanı, kemik iliği ve ektopik kemikte HKH sayısında artış gözlenmiştir. Çalışmada takip eden dönemde ektopik osteogenezin kesintiye uğramasıyla birlikte osteoklast sayısında ve eş zamanlı olarak HKH sayısında azalma olmuştur. Bu sonuçlar, kemiğin yeniden yapılanma süreci ile HKH mobilizasyonu arasında ilişki olabileceğini ve D vitamini alımı ve fiziksel egzersizin yeniden yapılanmayı artırarak hematopoezi ve mobilizasyonu destekleyebileceğini düşündürmektedir (84).

Hematopoietik kök hücre mikroçevresindeki sempatik sinir hücrelerinin kök hücre mobilizasyonuna katkısını gösteren çalışmalar da mevcuttur (8, 62, 209-211). Sempatik nöronlarda G-CSF reseptörü bulunmaktadır. Sempatik nöronların G-CSF ile in vitro uyarılması sonrası sinaptik aralıktaki noradrenalin geri alımının azaldığı gösterilmiştir. Lucas ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada noradrenalin geri alım inhibitörü olan desipramin verildiğinde G-CSF aracılı mobilizasyonun belirgin oranda arttığı gösterilmiştir (209). Perivasküler nişte sinir uçlarından noradrenalin salınımı perivasküler stromal hücrelerden CXCL12 salınımını azaltmaktadır. Méndez-Ferrer ve arkadaşlarının çalışmasında

noradrenalin salınımının sirkadyan olduğu gösterilmiştir (210). Bu durum HKH'lerin çevre kanına sirkadyan mobilizasyonuna neden olmaktadır (8, 210).

Adams ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kalsiyum-duyarlı reseptörlerin HKH'lerin endosteal nişe yerleşmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (212). Kalsiyumun HKH'lerin osteoblastik nişteki davranışını etkilediğinin gösterilmesinin ardından 2010 yılında Kawamori ve arkadaşları kalsiyum-düzenleyici hormonların ve sempatik sinir sisteminin HKH trafiğine olası etkisini değerlendirmek için fareler üzerine bir çalışma yapmıştır. Hematopoietik kök hücrelerin G-CSF aracılı mobilizasyonunu sağlayan mekanizmanın beta 2 - adrenerjik reseptörlerin uyarılmasıyla birlikte osteoblastların baskılanması olduğu belirtilmiştir. Vitamin D reseptöründen yoksun farelerde osteoblast baskılanması ve dolayısıyla kök hücre mobilizasyonu bozulmuştur. Vitamin D reseptörü varlığının G-CSF aracılı HKH mobilizasyonu için gerekli olduğu ifade edilmiştir. Bu mekanizmada VDR'nin beyin-kemik-kan üçlü etkileşiminde merkezi bir odak olarak görev yapıyor olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca ortamdaki D vitamini varlığının adrenerjik uyarıyla üretilen VDR protein seviyesinin devamlılığını sağladığı saptanmıştır. Beta 2 - adrenerjik uyarı sonrası osteoblastlardaki VDR mRNA seviyesinin artması nedeniyle aktif D vitamininin osteoblastlardaki biyolojik aktivitesinin sadece D vitamini düzeyleriyle değil, özgün hormon reseptörünün ifadenmesiyle de ilişkili olduğu düşünülebilir. Aynı çalışmada, VDR yokluğunda da G-CSF ile kemik iliğinde CXCL12'de azalma sağlanmış, buna rağmen mobilizasyon olumsuz etkilenmiştir. Bu sonuç, G-CSF aracılı kök hücre mobilizasyonunda CXCL12'nin azalmasının önemini vurgulayan önceki

Çalışmaların aksine, CXCL12'nin azalmasının G-CSF aracılı mobilizasyonda anahtar etken olmayabileceğini ortaya koymuştur. Öte yandan, CXCR4 antagonistlerinin (AMD 3100) VDR yokluğunda da mobilizasyonu sağladığı görölmüştür. Granülosit-koloni stimüle edici faktör aracılı mekanizmada, VDR'nin aktive olması ve osteoblast baskılanması sonrasında HKH mobilizasyonunu destekleyen hedef genlerin transkripsiyonunun sağlandığı, CXCL12'nin bu hedef moleküllerden biri olmadığı düşünölmüştür (24).

Cortes ve arkadaşlarının hayvan embriyoları üzerinde yaptığı çalışmada, D vitamininin embriyonik HKH'lerin çoğalmasını artırdığı saptanmıştır. Bu etkiyi kalsiyumdan bağımsız bir mekanizmayla, CXCL8'in (IL-8) VDR aracılı transkripsiyonel aktivasyonu üzerinden gösterdiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada erişkin zebra balıkları da incelenmiş, aktif D vitamininin erişkin zebra balıklarında HKH üretimi ve fonksiyonunu artırdığı gözlenmiştir. Bu bulguların ardından insan umbilikal kord kanı üzerinde inceleme yapılmış, aktif D vitamini verildiğinde umbilikal kord kanı HKH'lerinin daha fazla çoğaldığı ve sağkalımın uzadığı görölmüştür. Sonuç olarak, vericilerdeki D vitamini düzeyinin nakil başarısına etkisini değerlendiren çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. Gebelerde D vitamini eksikliği sık görölmektedir. Bu durum göz önüne alındığında umbilikal kord kanı kaynaklı nakillerde de vericideki D vitamini düzeyi önem taşıyabilir. Ayrıca, bu çalışmada aktif D vitaminine yanıt olarak hem zebra balıkları hem de insan umbilikal kord kanında CXCL8 ifadenmesi artıyor olmasına rağmen, ilginç olarak CXCL8/CXCR1-2 sinyal aktivitesinin azaldığı

görülmüş; katkıda bulunabilecek VDR aracılı diğer mekanizmaların da irdelenmesi gerektiği düşünülmüştür (25).

Çalışmamızda allojeneik vericilerdeki D vitamini düzeyi, G-CSF 4. gününde bakılan çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı ile ilişkili bulunmuştur. Bu sonuç, yukarıda bahsedilen in vitro çalışmalar ve hayvan deneylerinin bulgularını destekler niteliktedir. Öte yandan, yaptığımız çalışmada vericilerdeki D vitamini düzeyleri ile ilk güne ait ve toplam aferez ürünündeki CD34⁺ hücre sayısı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ürün CD34⁺ hücre sayısı ile çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı arasındaki ilişkiyi destekleyen çok sayıda çalışma mevcuttur (9, 130-134, 191). Bununla birlikte, Tanaka ve arkadaşlarının çalışmasında sağlıklı vericilerin çevre kanı ve ürün CD34⁺ hücre sayıları arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Çevre kanı CD34⁺ hücre sayısının 44/mcL'nin üzerinde olmasının mobilizasyonu olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir (213). Hosing ve arkadaşlarının 1126 aferez işlemi inceleyen çok merkezli çalışmasında, çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı 16/mcL ile 30/mcL arasında olduğunda ürün CD34⁺ hücre sayısı ile ilişkisinin zayıf olduğu saptanmıştır. Ancak çalışmada allojeneik vericiler için alt grup analizi yapılmamıştır (134). Çalışmamızda çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı 16/mcL ile 30/mcL aralığında olan 28 (%25) verici mevcuttu. Bu oran görece düşük kabul edildiğinde bahsedilen zayıf ilişkinin genel popülasyona etkisinin sınırlı olacağı düşünülebilir. Bununla birlikte, istatistiksel anlamlılığa ulaşamama nedeninin sınırlı olgu sayısı ve kök hücre işleme ve toplama sürecindeki teknik standardizasyon sorunları olabileceği düşünülmektedir. Bu konuda, standardize yöntemlerle geniş popülasyonlarda

yapılacak ileri çalışmalara gereksinim vardır. Ayrıca, yapılan çalışmalar kök hücre mobilizasyonunda sempatik sinir sisteminin etkili olduğunu ve noradrenalin salınımının sirkadyan ritim gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu nedenle, kök hücre toplama işleminde en yüksek verimin akşam saatlerinde elde edilebileceği belirtilmiştir (214, 215). Bu durumda, sirkadyan ritim de göz önüne alındığında, toplama işleminin saatinin de etkinliği ve başarıyı etkileyebileceği öngörülebilir.

Çalışmamızda D vitamini düzeyi 20 mcg/L'nin altında olan grupta elde edilen CD3⁺ hücre sayısı istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte daha yüksek bulunmuştur. D vitamininin monosit/makrofaj yönünde farklılaşmayı desteklediğini belirten çalışmaların yanı sıra, Rigby ve arkadaşlarının çalışmasında D vitamininin IL-2 üretimini ve T lenfosit proliferasyonunu baskıladığı gösterilmiştir (216).

Aferez işlemi sonrasında elde edilen kök hücre miktarı allojeneik vericiler arasında belirgin değişkenlik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda bu duruma sebep olabilecek vericiye ait özellikler ve bunların mobilizasyon üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Genç yaş, erkek cinsiyet ve artmış VKİ'nin mobilizasyon başarısını artırabileceğini belirten çalışmalar bulunmakla birlikte, bazı çalışmalarda bu değişkenlerle kök hücre mobilizasyonu arasında ilişki saptanmamıştır (4, 6, 9, 189, 192, 217-222). Çalışmalardaki bu çelişkili sonuçlara; çalışma popülasyonlarının büyüklükleri, uygulanan mobilizasyon rejimleri ve aferez işlem tekniklerindeki farklılıklar yol açmış olabilir. Teipel ve arkadaşlarının çalışmasında sigara kullanan vericilerde mobilizasyon başarısının azaldığı saptanmıştır (4). Martín-Antonio ve arkadaşlarının çalışmasında ise

sağlıklı vericilerdeki genetik polimorfizmlerin mobilizasyon üzerine etkisi incelenmiştir. Vericilerdeki VCAM1, CD44, G-CSF reseptörü, CXCL12 ve CXCR4'e ait genetik varyasyonların G-CSF sonrası elde edilen CD34⁺ hücre sayısını etkilediği gösterilmiştir (223).

Verici yaşının kök hücre mobilizasyonuna etkisini değerlendiren çok sayıda çalışma mevcuttur. Yaşlanmayla birlikte kemik iliğinde hematopoietik fonksiyonun bozulması mobilizasyon başarısızlığına yol açabilir (9, 224). Çoğu çalışmada genç yaşta mobilizasyon veriminin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (4, 9, 189, 220-222). Bununla birlikte, bazı çalışmalarda verici yaşının mobilizasyon üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir (192, 219). Bischoff-Ferrari ve arkadaşları yaşlanmayla birlikte VDR ifadenmesinin azaldığını belirtmiştir (225). Ayrıca yaşlanmayla birlikte ciltte D vitamini sentezi de azalmaktadır (202, 226). Vitamin D reseptör ifadenmesinin kök hücre mobilizasyonu üzerine etkisi olduğu varsayılırsa, bunun yaşla birlikte mobilizasyonunun azalmasına katkıda bulunan sebeplerden biri olabileceği düşünülebilir. Öte yandan, çalışmamızda korelasyon analizleri ve alt grup analizlerinde yaş ile çevre kanı, ilk ürün ve toplam ürün CD34⁺ hücre sayıları, TNC, TMNC, CD3⁺ hücre sayıları ve D vitamini düzeyi arasında ilişki görülmedi. Çalışma popülasyonunda ileri yaştaki verici sayısının azlığı, yaş ile D vitamini arasında ilişki saptanmamasının nedeni olarak düşünülebilir.

Bazı çalışmalarda erkek vericilerde kadın vericilerle karşılaştırıldığında kök hücre mobilizasyon başarısının daha yüksek olduğu belirtilmiştir (4, 192, 219). Öte yandan, cinsiyetin mobilizasyon üzerine etkisinin olmadığını gösteren

alışmalar da mevcuttur (9, 189, 217, 221). Çalışmamızda ortalanca veriler değerlendirildiğinde ilk aferez ürün CD34⁺ hücre sayısının erkeklerde kadınlarla karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Erkek vericilerin vücut kitlesinin ve dolayısıyla kan hacminin daha fazla olması mobilizasyon etkinliğine katkıda bulunabilecek sebeplerdendir (6, 192, 219). Çalışmamızda alt grup analizinde boy ve vücut ağırlığı ilk ürün CD34⁺ hücre sayısı ile ilişkili bulunmuştur. Bu sonuç yüksek kan hacminin mobilizasyon başarısını artırdığı şeklindeki görüşü desteklemektedir. Ayrıca, VKİ'nin çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar, vücut ağırlığı ve VKİ'nin mobilizasyon başarısı üzerine etkisini gösteren diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur (4, 6, 189, 218, 219). Buna rağmen, yüksek VKİ'nin HKH mobilizasyonuna etki mekanizması henüz net anlaşılamamıştır (4, 115). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada yağ dokusunun HKH içerdiiği gösterilmiştir (227). Gomes ve arkadaşlarının çalışmasında hiperkolesteroleminin SDF-1/CXCR4 bağlantısını etkilediği görülmüştür. Farelerde hiperkolesteroleminin HKH mobilizasyonunu, trombosit ve lenfosit sayısını olumlu etkilediği belirtilmiştir (228). Farklı bir çalışmada da yüksek serum LDL düzeyinin mobilizasyona olumlu etkisi gösterilmiştir (229).

Çalışmamızda korelasyon analizinde VKİ ile toplam ürünlerdeki TNC sayısı arasında ters yönde istatistiksel anlamlı ilişki mevcuttu. Ayrıca TNC sayısı ile fosfor düzeyi ve ürün viabilite oranı arasında pozitif ilişki saptandı. TMNC sayısı ile viabilite oranı arasında ise negatif ilişki mevcuttu. Kao ve arkadaşları kemik iliği kaynaklı kök hücre vericilerinde vücut ağırlığı ile TNC dansitesi arasında

pozitif ilişki saptamıştır (230). Farklı bir çalışmada kemik iliği kaynaklı AKHN'de elde edilen TNC sayısını etkileyen faktörler araştırılmış, vücut yüzey alanının TNC sayısı üzerine olumlu etkisinin olduğu saptanmıştır. Bu durum vücut yüzey alanı geniş olan vericilerin daha yüksek kemik iliği hacmine sahip olmalarıyla ilişkilendirilmiştir (231). Suzuya ve arkadaşlarının çalışmasında çevre kanı kaynaklı kök hücre vericilerinde genç yaş, düşük VKİ, mobilizasyon öncesi yüksek lökosit ve platelet sayısı, elde edilen TMNC sayısı ile ilişkili bulunmuştur (9). Bu koşullarda, çevre kanı kaynaklı AKHN'de toplanan TNC ve TMNC sayısına etki eden faktörleri araştıran ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda ürün $CD3^+$ hücre sayısı ve verici platelet sayısı arasında pozitif ilişki saptanmıştır. Ayrıca mobilizasyon öncesi lökosit sayısının G-CSF sonrası çevre kanı $CD34^+$ hücre sayısı ile pozitif ilişkisi saptanmıştır. Yapılan bazı çalışmalarda yüksek platelet sayısının elde edilen $CD34^+$ hücre sayısı üzerine olumlu etkisi gösterilmiştir (4, 9, 189). Perez ve arkadaşlarının çalışmasında yüksek serum SDF-1 düzeylerinin trombopoezi ve HKH mobilizasyonunu uyardığı belirtilmiştir (232). Aynı ilişkinin kemik iliği mikroçevresi için de mevcut olabileceği düşünülmüştür (9, 232). Öte yandan platelet sayısının mobilizasyon üzerine etkisinin olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (219, 221). Bir başka çalışmada mutlak lenfosit sayısı ve monosit yüzdesinin mobilizasyon başarısını artırdığı gösterilmiştir (4). Suzuya ve arkadaşlarının çalışmasında, bizim çalışmamıza benzer şekilde, mobilizasyon öncesi lökosit sayısının $CD34^+$ hücre sayısı üzerine olumlu etkisi gösterilmesine rağmen, bu görüşü desteklemeyen çalışmalar da bulunmaktadır (9, 189, 219, 221).

Çalışmamızda verici demir profiliyle kök hücre mobilizasyonu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Literatürde demir parametrelerinin allojeneik kök hücre mobilizasyonu üzerine olası etkisi konusunda yeterli veri bulunmamaktadır. Yapılan bir çalışmada mobilizasyon öncesi hematokrit değerinin ürün CD34⁺ hücre sayısı üzerindeki olumlu etkisi gösterilmiştir (233). Daha önce merkezimizde yapılan bir başka çalışmada, mobilizasyon yetmezliği olan allojeneik vericilerde hemoglobin ve ferritin seviyelerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir (219). Çalışmamızda ise hemoglobin, ferritin düzeyi ve transferrin saturasyonunun çevre kanı, ilk ürün ve toplam ürün CD34⁺ hücre sayısı üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır. Demir eksikliği ve mobilizasyon ilişkisini açıklamaya yönelik ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Çalışmamızın korelasyon analizinde folat düzeyinin ilk ürün CD34⁺ hücre sayısı ile pozitif ilişkisi gösterilmiştir. Ayrıca folat düzeyi aferez işlem sayısı ile pozitif ilişkili bulunmuştur. Henry ve arkadaşlarının yaptığı bir hayvan çalışmasında folat eksikliğinde HKH sayısında azalma olmadığı görülmüştür. Buna karşın folat eksikliğinin hücre döngüsünün işleyişini ve stres sonrası hematopoietik yeniden yapılanmayı olumsuz etkilediği ifade edilmiştir (234). Folat düzeyinin allojeneik vericilerde mobilizasyona olası etkisini değerlendirecek ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Egan ve arkadaşlarının çalışmasında otolog ve allojeneik vericilerdeki yüksek LDH düzeyinin mobilizasyon başarısını artırdığı saptanmıştır (235). Hücre yapım ve yıkım döngüsünde gözlenen artışların LDH düzeyini yükselttiği bilinmektedir (235, 236). Buna karşın, Teipel ve arkadaşlarının çalışmasında

yüksek LDH seviyesinin HKH mobilizasyonunu olumsuz etkilediği görülmüştür (4). Çalışmamızda LDH düzeyi ile CD34⁺ hücre sayısı arasında ilişki saptanmamıştır. Bununla birlikte CD3⁺ hücre sayısı ile LDH düzeyi arasında negatif ilişki gözlenmiştir. Çelişkili sonuçlar nedeniyle bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda yüksek HDL düzeyinin toplam ürün CD34⁺ hücre sayısına olumsuz etkisi gösterilmiştir. Aynı zamanda korelasyon analizinde CD3⁺ hücre sayısı ile ters yönde ilişkili bulunmuştur. Literatürde de çalışmamıza benzer şekilde HDL'nin HKH çoğalmasını olumsuz yönde etkilediğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda HDL'nin kolesterol akışı ve hücre içi sinyal yollarının düzenlenmesi üzerinden hücre çoğalmasını baskıladığı belirtilmiştir (237, 238). Kök hücre mobilizasyonu öncesi vericilerin lipid profilinin değerlendirilmesi önem taşımaktadır.

Çalışmamızda ALT düzeyi çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı ile ilişkili bulunmuştur. Literatürde bu konuda yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Alanin amino transferazın metabolik sendrom ve karaciğer yağlanması ile ilişkisi bilinmektedir (239, 240). Çalışmamızda da ALT düzeyi trigliserid seviyesi ve VKİ ile ilişkili bulunmuştur, HDL düzeyiyle arasında ters ilişki saptanmıştır. Çalışmamızda erkek vericilerde ALT düzeyi daha yüksek bulunmuştur. Literatürde bu durum erkeklerde karaciğer yağlanmasının daha sık görülmesiyle ilişkilendirilmiştir (239, 241, 242).

Çalışmamızda fosfor düzeyinin $CD3^+$ ve TNC sayısı üzerine olumlu, ilk ve toplam ürün $CD34^+$ hücre sayısı üzerine olumsuz etki gösterdiği saptandı. Buna karşın, çalışma grubunda fosfor düzeyi D vitamini ile korele değildi. $CD3^+$ ve TNC sayısı ile pozitif, ürün $CD34^+$ hücre sayısı ile negatif ilişki izlenmesi nedeniyle, fosforun HKH farklılaşması üzerinde etkisinin olabileceği düşünülebilir. Her koşulda, fosfor düzeyinin bu olası etkilerini açıklayabilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızın sonuçları kök hücre canlılığı (viabilite) için yeterli demir ve vitamin B12 düzeyinin gerekliliğine dikkat çekmektedir. Ferritin düzeyi 30 ng/ml'nin, transferrin saturasyonu %15'in ve vitamin B12 düzeyi 200 pg/ml'nin altında olan gruplarda kök hücre canlılığında anlamlı düşüş saptanmıştır. Önceki çalışmalarda otolog KHN öncesi artmış demir yükünün HKH mobilizasyonunu olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Reaktif oksijen radikallerinde artışa neden olarak kök hücrelere hasar verdiği düşünülmüştür (243-245). Öte yandan, yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada demir eksikliğinin hematopoietik öncül hücrelerin çoğalmasını azalttığı ve sağkalımını kısalttığı tespit edilmiştir (246). Koury ve arkadaşları folat ve B12 vitamini eksikliğinde deoksinükleotidlerin sentezinin azaldığını, bu durumun DNA sentezinin ve onarımının bozulmasına ve apoptoza yol açabildiğini belirtmiştir (247).

Çalışmamızda istatistiksel anlamlı bulunmamakla birlikte CRP yüksekliğinin kök hücre canlılığını olumsuz etkileyebileceği görülmüştür. Aynı zamanda negatif akut faz reaktanı olan albumin düzeyi hücre canlılık oranıyla korele bulunmuştur. C-reaktif proteinin özellikle endotelial öncül hücrelerin

apoptozunu uyardığını belirten çalışmalar bulunmaktadır. İleri glikasyon son ürünleri üzerinden anti-oksidan cevabı olumsuz etkilediği saptanmıştır (248-250). Kim ve arkadaşlarının çalışmasında CRP'nin monositlerde BTG2 gen ifadenmesini desteklediği ve CD32/NADPH oksidaz 2/p53 yolağı üzerinden hücre ölümünü artırdığı gösterilmiştir (251). Zoellner ve arkadaşları ise albüminin endotelial hücrelerde apoptozu inhibe ettiğini saptamıştır (252). Çalışmamızda ALP düzeyi ve platelet sayısı ile hücre canlılık oranı arasında negatif ilişki gösterilmiştir. Platelet sayısının da CRP gibi inflamatuvar durumlarda yükseldiği bilinmektedir (253, 254). Bu sonuçları desteklemek ve altta yatan mekanizmaları açıklayabilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda erkek ve kadın vericilere ait ortanca değerler karşılaştırıldığında erkeklerde beklendiği şekilde boy daha uzun, vücut ağırlığı daha fazla bulunmuştur. Premenopozal yaş grubundaki verici sayısının görece fazla olduğu çalışma popülasyonumuzda, kadın vericilerde demir eksikliğinin ve aneminin daha sık görülmesi literatürle uyumludur (255, 256). Kadın vericilerde platelet sayısının daha yüksek saptanmasının nedeni demir eksikliğinin daha sık görülmesi olabilir (257). Ortanca CRP kadınlarda daha yüksek bulunmuştur. Bu durum kadınlardaki yağ doku fazlalığı ve bunun metabolik sonuçları ile ilişkili olabilir (258, 259). Çalışmamızda erkek vericilerde saptanan yüksek BUN, kreatinin, albümin ve ürik asit düzeyleri erkeklerdeki yüksek kas kitlesiyle ilişkilendirilebilir (260, 261). Erkeklerde kalsiyum ortanca düzeyinin daha yüksek bulunmasının sebebi D vitamini düzeyinin kadınlara kıyasla daha yüksek olması olabilir (13, 153). Öte yandan kadın vericilerde ortanca D vitamini düzeyi daha

düşük olmasına rağmen fosfor düzeyi daha yüksek bulunmuştur. Bu farklı sonucu açıklayabilmek için daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda yüksek D vitamini grubunda hemoglobin, ferritin ve transferrin saturasyonu anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu bulgular yüksek D vitamini grubunda erkek verici sayısının daha fazla olması ile açıklanabilir. Aynı durum korelasyon analizinde saptanan serum kreatinin ve D vitamini düzeyi arasındaki pozitif ilişkiyi de açıklayabilir. Ayrıca, kronik böbrek hastalığında 1-alfa hidroksilaz enzim aktivitesinin azalmasına bağlı olarak aktif D vitamini sentezi azalmaktadır. Artan pigmentasyona bağlı ciltte pre-D3 sentezinin azalması da D vitamini düzeyini azaltabilmektedir (262, 263). Ancak çalışma popülasyonumuzun sağlıklı vericilerden oluşması D vitamini kreatinin ilişkisinde ilk öne sürdüğümüz hipotezi desteklemektedir. D vitamininin demir metabolizmasıyla ilişkisini inceleyen çalışmalarda, D vitamininin hepsidini baskılayabildiği gösterilmiştir (150, 154, 264).

Sonuç olarak, bu çalışma allojeneik vericilerde D vitamini düzeyinin HKH mobilizasyonu üzerine etkisini değerlendiren bilinen ilk çalışmadır. Çalışmanın sınırlayıcı yönleri geriye dönük olması ve az sayıda vericide yapılmış olmasıdır.

Son yıllarda artan bilgi ve deneyime rağmen AKHN'de mobilizasyon başarısızlığı halen önemli bir sorundur. Hematopoietik kök hücre mikroçevresinin karmaşık yapı ve etkileşimleri nedeniyle hücrel mekanizmaların daha iyi anlaşılması gerekmektedir. Kalsiyum-düzenleyici hormonların bu mikroçevrede etkilerinin olabileceğini göz önünde bulundurularak yapılan in vitro çalışmalar ve

hayvan deneylerinde D vitamininin mobilizasyon üzerine olumlu etkilerinin olabileceği gösterilmiştir. Bu bulguların klinik uygulamaya girebilmesi için kök hücre vericileri üzerinde yapılacak ileriye dönük geniş çalışmalara ihtiyaç vardır. Öte yandan vericilerdeki VDR gen polimorfizmlerinin mobilizasyon başarısı üzerine olan olası etkisi de göz ardı edilmemelidir. D vitamini analoglarının beta 2 agonistlerle kombine kullanımı için yeterli veri bulunmamaktadır. D vitamini eksikliğinin yaygınlığı ve tedavisinin ucuz ve güvenilir olduğu göz önünde bulundurulduğunda, D vitamininin kök hücre mobilizasyonundaki olası rolü ileri araştırmayı gerekli kılmaktadır. Allojeneik vericilerdeki D vitamini düzeyinin ve uygulanacak D vitamini replasmanının kök hücre mobilizasyon başarısı üzerine etkisini değerlendiren ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

Çalışmanın sonuçları aşağıda özetlenmiştir:

- 1) Sağlıklı allojeneik kök hücre verici popülasyonunda D vitamini eksikliğin yaygın olduğu ve bu eksikliğin kadın vericilerde daha sık görüldüğü saptandı.
- 2) Allojeneik HKH vericilerinde mobilizasyon öncesi serum 25-hidroksi vitamin D düzeylerinin, G-CSF 4. gününde bakılan çevre kanı CD34⁺ kök hücre sayısı üzerine etkili olduğu gösterildi.
- 3) Allojeneik vericilerde mobilizasyon öncesi serum 25-hidroksi vitamin D düzeylerinin, ilk ve toplam ürün CD34⁺ hücre sayısı üzerine etkisinin olmadığı gösterildi.
- 4) Allojeneik vericilerde boy, vücut ağırlığı ve vücut kitle indeksinin (VKİ) çevre kanı ve/veya ürün CD34⁺ hücre sayısı üzerine etkili olduğu gösterildi.
- 5) Allojeneik verici yaşının HKH mobilizasyonuna etkisinin olmadığı gösterildi.
- 6) Allojeneik vericilerde transferrin saturasyonu, ferritin ve vitamin B12 düzeylerinin hücre canlılık oranı üzerine etkisinin olduğu gösterildi.
- 7) Allojeneik vericilerde D vitamini düzeyinin ve D vitamini replasmanının kök hücre mobilizasyon başarısı üzerine olası etkisini değerlendirecek ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, Basak GW, Bonini C, Duarte R, et al. Is the use of unrelated donor transplantation leveling off in Europe? The 2016 European Society for Blood and Marrow Transplant activity survey report. *Bone Marrow Transplant*. 2018; 53(9):1139-1148.
2. Tekgündüz E, Şencan İ, Kapuağası A, Ünal D, Öztürk M, Gümüş E, et al. Hematopoietic cell transplantation activity of Turkey in 2014: Ongoing increase in HCT rates. *Transfus Apher Sci*. 2016; 54(1):53-9.
3. Chen SH, Wang TF and Yang KL. Hematopoietic stem cell donation. *Int J Hematol*. 2013; 97(4):446-55.
4. Teipel R, Schetelig J, Kramer M, Schmidt H, Schmidt AH, Thiede C, et al. Prediction of hematopoietic stem cell yield after mobilization with granulocyte-colony-stimulating factor in healthy unrelated donors. *Transfusion* 2015; 55(12):2855-63.
5. Hopman RK and DiPersio JF. Advances in stem cell mobilization. *Blood Rev*. 2014; 28(1):31-40.
6. Ings SJ, Balsa C, Leverett D, Mackinnon S, Linch DC and Watts MJ. Peripheral blood stem cell yield in 400 normal donors mobilised with granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF): impact of age, sex, donor weight and type of G-CSF used. *Br J Haematol*. 2006; 134(5):517-25.
7. Pulsipher MA, Chitphakdithai P, Logan BR, Leitman SF, Anderlini P, Klein JP, et al. Donor, recipient, and transplant characteristics as risk

- factors after unrelated donor PBSC transplantation: beneficial effects of higher CD34+ cell dose. *Blood* 2009; 114(13):2606-16.
8. de Kruijf EFM, Fibbe WE and van Pel M. Cytokine-induced hematopoietic stem and progenitor cell mobilization: unraveling interactions between stem cells and their niche. *Ann N Y Acad Sci.* 2019.
 9. Suzuya H, Watanabe T, Nakagawa R, Watanabe H, Okamoto Y, Onishi T, et al. Factors associated with granulocyte colony-stimulating factor-induced peripheral blood stem cell yield in healthy donors. *Vox Sang.* 2005; 89(4):229-35.
 10. Reddy RL. Mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells for transplantation. *Transfus Apher Sci.* 2005; 32(1):63-72.
 11. Kindwall-Keller T. Peripheral stem cell collection: from leukocyte growth factor to removal of catheter. *J Clin Apher.* 2014; 29(4):199-205.
 12. Naeem Z. Vitamin d deficiency- an ignored epidemic. *Int J Health Sci (Qassim)* 2010; 4(1):V-VI.
 13. Hekimsoy Z, Dinç G, Kafesçiler S, Onur E, Güvenç Y, Pala T, et al. Vitamin D status among adults in the Aegean region of Turkey. *BMC Public Health* 2010; 10:782.
 14. Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord.* 2017; 18(2):153-165.
 15. Palacios C and Gonzalez L. Is vitamin D deficiency a major global public health problem? *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014; 144 Pt A:138-45.

16. Christakos S, Hewison M, Gardner DG, Wagner CL, Sergeev IN, Rutten E, et al. Vitamin D: beyond bone. *Ann N Y Acad Sci* 2013; 1287:45-58.
17. Hall AC and Juckett MB. The role of vitamin D in hematologic disease and stem cell transplantation. *Nutrients*. 2013; 5(6):2206-21.
18. Cao H, Xu Y, de Necochea-Campion R, Baylink DJ, Payne KJ, Tang X, et al. Application of vitamin D and vitamin D analogs in acute myelogenous leukemia. *Exp Hematol*. 2017; 50:1-12.
19. Harrison JS and Bershadskiy A. Clinical experience using vitamin d and analogs in the treatment of myelodysplasia and acute myeloid leukemia: a review of the literature. *Leuk Res Treatment* 2012; 2012:125814.
20. von Bahr L, Blennow O, Alm J, Björklund A, Malmberg KJ, Mougiakakos D, et al. Increased incidence of chronic GvHD and CMV disease in patients with vitamin D deficiency before allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50(9):1217-23.
21. Glotzbecker B, Ho VT, Aldridge J, Kim HT, Horowitz G, Ritz J, et al. Low levels of 25-hydroxyvitamin D before allogeneic hematopoietic SCT correlate with the development of chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48(4):593-7.
22. Middleton PG, Cullup H, Dickinson AM, Norden J, Jackson GH, Taylor PR, et al. Vitamin D receptor gene polymorphism associates with graft-versus-host disease and survival in HLA-matched sibling allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2002; 30(4):223-8.

23. Bogunia-Kubik K, Middleton P, Norden J, Dickinson A and Lange A. Association of vitamin D receptor polymorphisms with the outcome of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Int J Immunogenet.* 2008; 35(3):207-13.
24. Kawamori Y, Katayama Y, Asada N, Minagawa K, Sato M, Okamura A, et al. Role for vitamin D receptor in the neuronal control of the hematopoietic stem cell niche. *Blood* 2010; 116(25):5528-35.
25. Cortes M, Chen MJ, Stachura DL, Liu SY, Kwan W, Wright F, et al. Developmental Vitamin D Availability Impacts Hematopoietic Stem Cell Production. *Cell Rep.* 2016; 17(2):458-468.
26. Rogers EH, Hunt JA and Pekovic-Vaughan V. Adult stem cell maintenance and tissue regeneration around the clock: do impaired stem cell clocks drive age-associated tissue degeneration? *Biogerontology* 2018; 19(6):497-517.
27. Morrison SJ and Kimble J. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer. *Nature* 2006; 441(7097):1068-74.
28. Watt FM and Hogan BL. Out of Eden: stem cells and their niches. *Science* 2000; 287(5457):1427-30.
29. Wu G and Schöler HR. Lineage Segregation in the Totipotent Embryo. *Curr Top Dev Biol.* 2016; 117:301-17.
30. Baker CL and Pera MF. Capturing Totipotent Stem Cells. *Cell Stem Cell* 2018; 22(1):25-34.

31. Bošković A, Eid A, Pontabry J, Ishiuchi T, Spiegelhalter C, Raghu Ram EV, et al. Higher chromatin mobility supports totipotency and precedes pluripotency in vivo. *Genes Dev.* 2014; 28(10):1042-7.
32. Sohni A and Verfaillie CM. Multipotent adult progenitor cells. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2011; 24(1):3-11.
33. Amabile G and Meissner A. Induced pluripotent stem cells: current progress and potential for regenerative medicine. *Trends Mol Med.* 2009; 15(2):59-68.
34. Chen T, Wang F, Wu M and Wang ZZ. Development of hematopoietic stem and progenitor cells from human pluripotent stem cells. *J Cell Biochem.* 2015; 116(7):1179-89.
35. Mosaad YM. Hematopoietic stem cells: an overview. *Transfus Apher Sci.* 2014; 51(3):68-82.
36. Ho MS, Medcalf RL, Livesey SA and Traianedes K. The dynamics of adult haematopoiesis in the bone and bone marrow environment. *Br J Haematol.* 2015; 170(4):472-86.
37. Takahashi K and Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126(4):663-76.
38. Martin-Rendon E and Watt SM. Stem cell plasticity. *Br J Haematol.* 2003; 122(6):877-91.

39. Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001; 105(3):369-77.
40. Horwitz EM. Stem cell plasticity: a new image of the bone marrow stem cell. *Curr Opin Pediatr.* 2003; 15(1):32-7.
41. Alison MR, Poulsom R, Otto WR, Vig P, Brittan M, Direkze NC, et al. Recipes for adult stem cell plasticity: fusion cuisine or readymade? *J Clin Pathol.* 2004; 57(2):113-20.
42. Wang X, Willenbring H, Akkari Y, Torimaru Y, Foster M, Al-Dhalimy M, et al. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature* 2003; 422(6934):897-901.
43. Luevano M, Madrigal A and Saudemont A. Generation of natural killer cells from hematopoietic stem cells in vitro for immunotherapy. *Cell Mol Immunol.* 2012; 9(4):310-20.
44. Papapetrou EP, Zoumbos NC and Athanassiadou A. Genetic modification of hematopoietic stem cells with nonviral systems: past progress and future prospects. *Gene Ther.* 2005; 12 Suppl 1:S118-30.
45. Serakinci N and Keith WN. Therapeutic potential of adult stem cells. *Eur J Cancer.* 2006; 42(9):1243-6.
46. Seita J and Weissman IL. Hematopoietic stem cell: self-renewal versus differentiation. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* 2010; 2(6):640-53.

47. Summers C, Rankin SM, Condliffe AM, Singh N, Peters AM and Chilvers ER. Neutrophil kinetics in health and disease. *Trends Immunol.* 2010; 31(8):318-24.
48. de Back DZ, Kostova EB, van Kraaij M, van den Berg TK and van Bruggen R. Of macrophages and red blood cells; a complex love story. *Front Physiol.* 2014; 5:9.
49. Moehrle BM and Geiger H. Aging of hematopoietic stem cells: DNA damage and mutations? *Exp Hematol.* 2016; 44(10):895-901.
50. Metcalf D. Hematopoietic cytokines. *Blood* 2008; 111(2):485-91.
51. Zhang CC and Lodish HF. Cytokines regulating hematopoietic stem cell function. *Curr Opin Hematol.* 2008; 15(4):307-11.
52. Durand C and Dzierzak E. Embryonic beginnings of adult hematopoietic stem cells. *Haematologica* 2005; 90(1):100-8.
53. Golub R and Cumano A. Embryonic hematopoiesis. *Blood Cells Mol Dis.* 2013; 51(4):226-31.
54. Yu VW and Scadden DT. Hematopoietic Stem Cell and Its Bone Marrow Niche. *Curr Top Dev Biol.* 2016; 118:21-44.
55. Georgiades CS, Neyman EG, Francis IR, Sneider MB and Fishman EK. Typical and atypical presentations of extramedullary hemopoiesis. *AJR Am J Roentgenol.* 2002; 179(5):1239-43.
56. Sohawon D, Lau KK, Lau T and Bowden DK. Extra-medullary haematopoiesis: a pictorial review of its typical and atypical locations. *J Med Imaging Radiat Oncol.* 2012; 56(5):538-44.

57. Orphanidou-Vlachou E, Tziakouri-Shiakalli C and Georgiades CS. Extramedullary hemopoiesis. *Semin Ultrasound CT MR*. 2014; 35(3):255-62.
58. Blank U, Karlsson G and Karlsson S. Signaling pathways governing stem-cell fate. *Blood* 2008; 111(2):492-503.
59. Görgens A, Radtke S, Möllmann M, Cross M, Dürig J, Horn PA, et al. Revision of the human hematopoietic tree: granulocyte subtypes derive from distinct hematopoietic lineages. *Cell Rep*. 2013; 3(5):1539-52.
60. Ceredig R, Rolink AG and Brown G. Models of haematopoiesis: seeing the wood for the trees. *Nat Rev Immunol*. 2009; 9(4):293-300.
61. Can A. Haematopoietic stem cells niches: interrelations between structure and function. *Transfus Apher Sci*. 2008; 38(3):261-8.
62. Lunger I, Fawaz M and Rieger MA. Single-cell analyses to reveal hematopoietic stem cell fate decisions. *FEBS Lett*. 2017; 591(15):2195-2212.
63. Krause DS, Scadden DT and Preffer FI. The hematopoietic stem cell niche-home for friend and foe? *Cytometry B Clin Cytom*. 2013; 84(1):7-20.
64. Lo Celso C and Scadden DT. The haematopoietic stem cell niche at a glance. *J Cell Sci*. 2011; 124(Pt 21):3529-35.
65. Nwajei F and Konopleva M. The bone marrow microenvironment as niche retreats for hematopoietic and leukemic stem cells. *Adv Hematol*. 2013; 2013:953982.

66. Motabi IH and DiPersio JF. Advances in stem cell mobilization. *Blood Rev.* 2012; 26(6):267-78.
67. Kiel MJ, Yilmaz OH, Iwashita T, Yilmaz OH, Terhorst C and Morrison SJ. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells. *Cell* 2005; 121(7):1109-21.
68. Anthony BA and Link DC. Regulation of hematopoietic stem cells by bone marrow stromal cells. *Trends Immunol.* 2014; 35(1):32-7.
69. Arai F, Hirao A, Ohmura M, Sato H, Matsuoka S, Takubo K, et al. Tie2/angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. *Cell* 2004; 118(2):149-61.
70. Yoshihara H, Arai F, Hosokawa K, Hagiwara T, Takubo K, Nakamura Y, et al. Thrombopoietin/MPL signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence and interaction with the osteoblastic niche. *Cell Stem Cell.* 2007; 1(6):685-97.
71. Lévesque JP, Hendy J, Takamatsu Y, Simmons PJ and Bendall LJ. Disruption of the CXCR4/CXCL12 chemotactic interaction during hematopoietic stem cell mobilization induced by GCSF or cyclophosphamide. *J Clin Invest.* 2003; 111(2):187-96.
72. Calvi LM. Osteoblastic activation in the hematopoietic stem cell niche. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; 1068:477-88.

73. Naveiras O, Nardi V, Wenzel PL, Hauschka PV, Fahey F and Daley GQ. Bone-marrow adipocytes as negative regulators of the haematopoietic microenvironment. *Nature* 2009; 460(7252):259-63.
74. Lévesque JP, Helwani FM and Winkler IG. The endosteal 'osteoblastic' niche and its role in hematopoietic stem cell homing and mobilization. *Leukemia*. 2010; 24(12):1979-92.
75. Taichman RS and Emerson SG. Human osteoblasts support hematopoiesis through the production of granulocyte colony-stimulating factor. *J Exp Med*. 1994; 179(5):1677-82.
76. Sims NA and Johnson RW. Leukemia inhibitory factor: a paracrine mediator of bone metabolism. *Growth Factors*. 2012; 30(2):76-87.
77. Kiel MJ, Radice GL and Morrison SJ. Lack of evidence that hematopoietic stem cells depend on N-cadherin-mediated adhesion to osteoblasts for their maintenance. *Cell Stem Cell*. 2007; 1(2):204-17.
78. Ding L, Saunders TL, Enikolopov G and Morrison SJ. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells. *Nature*. 2012; 481(7382):457-62.
79. Cho KA, Joo SY, Han HS, Ryu KH and Woo SY. Osteoclast activation by receptor activator of NF-kappaB ligand enhances the mobilization of hematopoietic progenitor cells from the bone marrow in acute injury. *Int J Mol Med*. 2010; 26(4):557-63.

80. Lympéri S, Ersek A, Ferraro F, Dazzi F and Horwood NJ. Inhibition of osteoclast function reduces hematopoietic stem cell numbers in vivo. *Blood* 2011; 117(5):1540-9.
81. Takamatsu Y, Simmons PJ, Moore RJ, Morris HA, To LB and Lévesque JP. Osteoclast-mediated bone resorption is stimulated during short-term administration of granulocyte colony-stimulating factor but is not responsible for hematopoietic progenitor cell mobilization. *Blood* 1998; 92(9):3465-73.
82. Fulzele K, Krause DS, Panaroni C, Saini V, Barry KJ, Liu X, et al. Myelopoiesis is regulated by osteocytes through $G\alpha$ -dependent signaling. *Blood* 2013; 121(6):930-9.
83. Asada N, Katayama Y, Sato M, Minagawa K, Wakahashi K, Kawano H, et al. Matrix-embedded osteocytes regulate mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells. *Cell Stem Cell*. 2013; 12(6):737-47.
84. Nagayoshi K, Ohkawa H, Yorozu K, Higuchi M, Higashi S, Kubota N, et al. Increased mobilization of c-kit⁺ Sca-1⁺ Lin⁻ (KSL) cells and colony-forming units in spleen (CFU-S) following de novo formation of a stem cell niche depends on dynamic, but not stable, membranous ossification. *J Cell Physiol*. 2006; 208(1):188-94.
85. Kacena MA, Gundberg CM and Horowitz MC. A reciprocal regulatory interaction between megakaryocytes, bone cells, and hematopoietic stem cells. *Bone* 2006; 39(5):978-984.

86. Körbling M and Anderlini P. Peripheral blood stem cell versus bone marrow allotransplantation: does the source of hematopoietic stem cells matter? *Blood* 2001; 98(10):2900-8.
87. Billen A, Madrigal JA and Shaw BE. A review of the haematopoietic stem cell donation experience: is there room for improvement? *Bone Marrow Transplant.* 2014; 49(6):729-36.
88. Pruszczyk K, Skwierawska K, Król M, Moskowicz A, Jabłoński D, Torosian T, et al. Bone marrow harvest from unrelated donors-up-to-date methodology. *Eur J Haematol.* 2017; 99(4):357-365.
89. Remberger M, Ringdén O and Mattsson J. Bone marrow aspiration technique has deteriorated in recent years. *Bone Marrow Transplant.* 2015; 50(7):1007-9.
90. Ljungman P, Bregni M, Brune M, Cornelissen J, de Witte T, Dini G, et al. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe 2009. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45(2):219-34.
91. Panch SR, Szymanski J, Savani BN and Stroncek DF. Sources of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells and Methods to Optimize Yields for Clinical Cell Therapy. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017; 23(8):1241-1249.
92. Champlin RE, Schmitz N, Horowitz MM, Chappuis B, Chopra R, Cornelissen JJ, 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(12):3702-9.

93. Schrezenmeier H, Passweg JR, Marsh JC, Bacigalupo A, Bredeson CN, Bullorsky E, et al. Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia. *Blood* 2007; 110(4):1397-400.
94. Gluckman E and Rocha V. Donor selection for unrelated cord blood transplants. *Curr Opin Immunol.* 2006; 18(5):565-70.
95. Schönberger S, Niehues T, Meisel R, Bernbeck B, Laws HJ, Kögler G, et al. Transplantation of haematopoietic stem cells derived from cord blood, bone marrow or peripheral blood: a single centre matched-pair analysis in a heterogeneous risk population. *Klin Padiatr.* 2004; 216(6):356-63.
96. Sotnezova EV, Andreeva ER, Grigoriev AI and Buravkova LB. Ex Vivo Expansion of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells from Umbilical Cord Blood. *Acta Naturae.* 2016; 8(3):6-16.
97. Majhail NS, Farnia S, Carpenter PA, Champlin RE, Crawford S, Marks DI, et al. Indications for Autologous and Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015; 1863-1869.
98. Armitage JO. Bone marrow transplantation. *N Engl J Med.* 1994; 330(12):827-38.

99. Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med*. 2006; 354(17):1813-26.
100. Khaddour K and Mewawalla P. Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *StatPearls* 2019.
101. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, Giralt S, Lazarus H, Ho V, et al. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009; 15(12):1628-33.
102. Donmez A, Tombuloglu M, Gulbahar O, Arik B, Cagiran S, Vural F, et al. CD31 expression on peripheral blood stem cells predicts both early neutrophil and platelet engraftments. *Transfus Apher Sci*. 2013; 49(2):307-12.
103. Atilla E, Ataca Atilla P and Demirer T. A Review of Myeloablative vs Reduced Intensity/Non-Myeloablative Regimens in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantations. *Balkan Med J*. 2017; 34(1):1-9.
104. Jethava YS, Sica S, Savani B, Socola F, Jagasia M, Mohty M, et al. Conditioning regimens for allogeneic hematopoietic stem cell transplants in acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant*. 2017; 52(11):1504-1511.
105. Gyurkocza B and Sandmaier BM. Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation: one size does not fit all. *Blood* 2014; 124(3):344-53.

106. Little AM, Green A, Harvey J, Hemmatpour S, Latham K, Marsh SG, et al. BSHI Guideline: HLA matching and donor selection for haematopoietic progenitor cell transplantation. *Int J Immunogenet*. 2016; 43(5):263-86.
107. Tiercy JM. How to select the best available related or unrelated donor of hematopoietic stem cells? *Haematologica*. 2016; 101(6):680-7.
108. Houdová L, Fetter M, Jindra P and Georgiev D. Optimal Donor Selection During Verification Process: Which Factors Are Worth Knowing? *Transplant Proc*. 2018; 50(10):3082-3087.
109. Gladstone DE and Bettinotti MP. HLA donor-specific antibodies in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: challenges and opportunities. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2017; 2017(1):645-650.
110. Valcárcel D, Sierra J, Wang T, Kan F, Gupta V, Hale GA, et al. One-antigen mismatched related versus HLA-matched unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation in adults with acute leukemia: Center for International Blood and Marrow Transplant Research results in the era of molecular HLA typing. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17(5):640-8.
111. Reisner Y, Hagin D and Martelli MF. Haploidentical hematopoietic transplantation: current status and future perspectives. *Blood* 2011; 118(23):6006-17.
112. Cutler CS, Lee SJ, Greenberg P, Deeg HJ, Pérez WS, Anasetti C, et al. A decision analysis of allogeneic bone marrow transplantation for the

myelodysplastic syndromes: delayed transplantation for low-risk myelodysplasia is associated with improved outcome. *Blood* 2004; 104(2):579-85.

113.Bolan CD, Leitman SF, Griffith LM, Wesley RA, Procter JL, Stroncek DF, et al. Delayed donor red cell chimerism and pure red cell aplasia following major ABO-incompatible nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2001; 98(6):1687-94.

114.Watz E, Remberger M, Ringden O, Lundahl J, Ljungman P, Mattsson J, et al. Analysis of donor and recipient ABO incompatibility and antibody-associated complications after allogeneic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014; 20(2):264-71.

115.Ljungman P, Brand R, Einsele H, Frassoni F, Niederwieser D and Cordonnier C. Donor CMV serologic status and outcome of CMV-seropositive recipients after unrelated donor stem cell transplantation: an EBMT megafile analysis. *Blood* 2003; 102(13):4255-60.

116.Pond GR, Lipton JH and Messner HA. Long-term survival after blood and marrow transplantation: comparison with an age- and gender-matched normative population. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2006; 12(4):422-9.

117.Kollman C, Howe CW, Anasetti C, Antin JH, Davies SM, Filipovich AH, et al. Donor characteristics as risk factors in recipients after transplantation of bone marrow from unrelated donors: the effect of donor age. *Blood* 2001; 98(7):2043-51.

- 118.Lee SJ, Klein J, Haagenson M, Baxter-Lowe LA, Confer DL, Eapen M, et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood* 2007; 110(13):4576-83.
- 119.Passweg JR, Zhang MJ, Rocha V, Kan F, Champlin RE, Isola LM, et al. Donor characteristics affecting graft failure, graft-versus-host disease, and survival after unrelated donor transplantation with reduced-intensity conditioning for hematologic malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17(12):1869-73.
- 120.Kollman C, Spellman SR, Zhang MJ, Hassebroek A, Anasetti C, Antin JH, et al. The effect of donor characteristics on survival after unrelated donor transplantation for hematologic malignancy. *Blood* 2016; 127(2):260-7.
- 121.Park S, Kim K, Kim DH, Jang JH, Kim SJ, Kim WS, et al. Changes of hepatitis B virus serologic status after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and impact of donor immunity on hepatitis B virus. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17(11):1630-7.
- 122.Lau GK, Liang R, Lee CK, Yuen ST, Hou J, Lim WL, et al. Clearance of persistent hepatitis B virus infection in Chinese bone marrow transplant recipients whose donors were anti-hepatitis B core- and anti-hepatitis B surface antibody-positive. *J Infect Dis*. 1998; 178(6):1585-91.
- 123.Strasser SI and McDonald GB. Hepatitis viruses and hematopoietic cell transplantation: A guide to patient and donor management. *Blood* 1999; 93(4):1127-36.

- 124.Styczynski J, Tridello G, Gil L, Ljungman P, Hoek J, Iacobelli S, et al. Impact of Donor Epstein-Barr Virus Serostatus on the Incidence of Graft-Versus-Host Disease in Patients With Acute Leukemia After Hematopoietic Stem-Cell Transplantation: A Study From the Acute Leukemia and Infectious Diseases Working Parties of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol*. 2016; 34(19):2212-20.
- 125.Horowitz MM and Confer DL. Evaluation of hematopoietic stem cell donors. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2005:469-75.
- 126.Kang EM, Areman EM, David-Ocampo V, Fitzhugh C, Link ME, Read EJ, et al. Mobilization, collection, and processing of peripheral blood stem cells in individuals with sickle cell trait. *Blood* 2002; 99(3):850-5.
- 127.Ozkan MC, Sahin F and Saydam G. Peripheral blood stem cell mobilization from healthy donors. *Transfus Apher Sci*. 2015; 53(1):13-6.
- 128.Jansen J, Thompson JM, Dugan MJ, Nolan P, Wiemann MC, Birhiray R, et al. Peripheral blood progenitor cell transplantation. *Ther Apher*. 2002; 6(1):5-14.
- 129.To LB, Haylock DN, Simmons PJ and Juttner CA. The biology and clinical uses of blood stem cells. *Blood* 1997; 89(7):2233-58.
- 130.Demirer T, Ilhan O, Ayli M, Arat M, Dagli M, Ozcan M, et al. Monitoring of peripheral blood CD34+ cell counts on the first day of apheresis is highly predictive for efficient CD34+ cell yield. *Ther Apher*. 2002; 6(5):384-9.

- 131.Armitage S, Hargreaves R, Samson D, Brennan M, Kanfer E and Navarrete C. CD34 counts to predict the adequate collection of peripheral blood progenitor cells. Bone Marrow Transplant. 1997; 20(7):587-91.
- 132.Hollingsworth KL, Zimmerman TM, Karrison T, Oliver A and Williams SF. The CD34+ cell concentration in peripheral blood predicts CD34+ cell yield in the leukapheresis product. Cytotherapy 1999; 1(2):141-6.
- 133.Sohn SK, Kim JG, Chae YS, Kim DH, Lee NY, Suh JS, et al. Large-volume leukapheresis using femoral venous access for harvesting peripheral blood stem cells with the Fenwal CS 3000 Plus from normal healthy donors: predictors of CD34+ cell yield and collection efficiency. J Clin Apher. 2003;18(1):10-5.
- 134.Hosing C, Saliba RM, Hamerschlak N, Kutner JM, Sakashita AM, Kondo AT, et al. Peripheral blood stem cell yield calculated using preapheresis absolute CD34+ cell count, peripheral blood volume processed, and donor body weight accurately predicts actual yield at multiple centers. Transfusion 2014; 54(4):1081-7.
- 135.Lefrère F, Mauge L, Réa D, Ribeil JA, Dal Cortivo L, Brignier AC, et al. A specific time course for mobilization of peripheral blood CD34+ cells after plerixafor injection in very poor mobilizer patients: impact on the timing of the apheresis procedure. Transfusion 2013; 53(3):564-9.
- 136.Yu J, Leisenring W, Bensinger WI, Holmberg LA and Rowley SD. The predictive value of white cell or CD34+ cell count in the peripheral blood

- for timing apheresis and maximizing yield. *Transfusion* 1999; 39(5):442-50.
- 137.Hashimoto S, Itoh M, Nishimura M and Asai T. Effect of filgrastim administration for steady-state mobilization of peripheral blood stem cells. *Ther Apher*. 2002; 6(6):431-6.
- 138.Dührsen U, Villeval JL, Boyd J, Kannourakis G, Morstyn G and Metcalf D. Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood* 1988; 72(6):2074-81.
- 139.Bilgin YM and de Greef GE. Plerixafor for stem cell mobilization: the current status. *Curr Opin Hematol*. 2016; 23(1):67-71.
- 140.Ballen KK, Shpall EJ, Avigan D, Yeap BY, Fisher DC, McDermott K, et al. Phase I trial of parathyroid hormone to facilitate stem cell mobilization. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007; 13(7):838-43.
- 141.Chen SH, Yang SH, Chu SC, Su YC, Chang CY, Chiu YW, 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(5):652-659.
- 142.Pulsipher MA, Chitphakdithai P, Miller JP, Logan BR, King RJ, Rizzo JD, et al. Adverse events among 2408 unrelated donors of peripheral blood stem cells: results of a prospective trial from the National Marrow Donor Program. *Blood* 2009; 113(15):3604-11.

143. Moalic V. Mobilization and collection of peripheral blood stem cells in healthy donors: risks, adverse events and follow-up. *Pathol Biol (Paris)*. 2013; 61(2):70-4.
144. Halter J, Kodera Y, Ispizua AU, Greinix HT, Schmitz N, Favre G, et al. Severe events in donors after allogeneic hematopoietic stem cell donation. *Haematologica* 2009; 94(1):94-101.
145. Anderlini P, Körbling M, Dale D, Gratwohl A, Schmitz N, Stroncek D, et al. Allogeneic blood stem cell transplantation: considerations for donors. *Blood* 1997; 90(3):903-8.
146. Padmanabhan A. Cellular collection by apheresis. *Transfusion* 2018; 58 Suppl 1:598-604.
147. Brauninger S, Bialleck H, Thoraus K, Seifried E and Bonig H. Mobilized allogeneic peripheral stem/progenitor cell apheresis with Spectra Optia v.5.0, a novel, automatic interface-controlled apheresis system: results from the first feasibility trial. *Vox Sang*. 2011; 101(3):237-46.
148. Törlén J, Ringdén O, Le Rademacher J, Batiwalla M, Chen J, Erkers T, et al. Low CD34 dose is associated with poor survival after reduced-intensity conditioning allogeneic transplantation for acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014; 20(9):1418-25.
149. Hollis BW. Assessment and interpretation of circulating 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D in the clinical environment. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2010; 39(2):271-86.

150. Medrano M, Carrillo-Cruz E, Montero I and Perez-Simon JA. Vitamin D: Effect on Haematopoiesis and Immune System and Clinical Applications. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(9).
151. Armas LA, Hollis BW and Heaney RP. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(11):5387-91.
152. Bikle D. Nonclassic actions of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94(1):26-34.
153. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(7):1911-30.
154. Hollis BW and Wagner CL. Clinical review: The role of the parent compound vitamin D with respect to metabolism and function: Why clinical dose intervals can affect clinical outcomes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98(12):4619-28.
155. Teske KA, Bogart JW, Sanchez LM, Yu OB, Preston JV, Cook JM, et al. Synthesis and evaluation of vitamin D receptor-mediated activities of cholesterol and vitamin D metabolites. *Eur J Med Chem.* 2016; 109:238-46.
156. Shimada T, Hasegawa H, Yamazaki Y, Muto T, Hino R, Takeuchi Y, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res.* 2004; 19(3):429-35.

- 157.Hosseini-nezhad A and Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc.* 2013; 88(7):720-55.
- 158.Priemel M, von Domarus C, Klatte TO, Kessler S, Schlie J, Meier S, et al. Bone mineralization defects and vitamin D deficiency: histomorphometric analysis of iliac crest bone biopsies and circulating 25-hydroxyvitamin D in 675 patients. *J Bone Miner Res.* 2010; 25(2):305-12.
- 159.Özdemir AA, Ercan Gündemir Y, Küçük M, Yıldırım Sarıcı D, Elgörmüş Y, Çağ Y, et al. Vitamin D Deficiency in Pregnant Women and Their Infants. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2018; 10(1):44-50.
- 160.Rachez C and Freedman LP. Mechanisms of gene regulation by vitamin D(3) receptor: a network of coactivator interactions. *Gene* 2000; 246(1-2):9-21.
- 161.Kato S. The function of vitamin D receptor in vitamin D action. *J Biochem.* 2000; 127(5):717-22.
- 162.Valdivielso JM and Fernandez E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim Acta.* 2006; 371(1-2):1-12.
- 163.Rathored J, Sharma SK, Singh B, Banavaliker JN, Sreenivas V, Srivastava AK, et al. Risk and outcome of multidrug-resistant tuberculosis: vitamin D receptor polymorphisms and serum 25(OH)D. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2012; 16(11):1522-8.
- 164.Hennig BJ, Parkhill JM, Chapple IL, Heasman PA and Taylor JJ. Association of a vitamin D receptor gene polymorphism with localized early-onset periodontal diseases. *J Periodontol.* 1999; 70(9):1032-8.

- 165.Lips P. Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol.* 2006; 92(1):4-8.
- 166.Hmama Z, Nandan D, Sly L, Knutson KL, Herrera-Velit P and Reiner NE. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D(3)-induced myeloid cell differentiation is regulated by a vitamin D receptor-phosphatidylinositol 3-kinase signaling complex. *J Exp Med.* 1999; 190(11):1583-94.
- 167.DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80(6 Suppl):1689S-96S.
- 168.Kitazawa S, Kajimoto K, Kondo T and Kitazawa R. Vitamin D3 supports osteoclastogenesis via functional vitamin D response element of human RANKL gene promoter. *J Cell Biochem.* 2003; 89(4):771-7.
- 169.Staal A, van Wijnen AJ, Birkenhäger JC, Pols HA, Prah J, DeLuca H, et al. Distinct conformations of vitamin D receptor/retinoid X receptor- α heterodimers are specified by dinucleotide differences in the vitamin D-responsive elements of the osteocalcin and osteopontin genes. *Mol Endocrinol.* 1996; 10(11):1444-56.
- 170.Shinki T, Ueno Y, DeLuca HF and Suda T. Calcitonin is a major regulator for the expression of renal 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase gene in normocalcemic rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(14):8253-8.
- 171.Slatopolsky E, Gonzalez E and Martin K. Pathogenesis and treatment of renal osteodystrophy. *Blood Purif.* 2003; 21(4-5):318-26.
- 172.Kizaki M, Norman AW, Bishop JE, Lin CW, Karmakar A and Koeffler HP. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 receptor RNA: expression in hematopoietic cells. *Blood* 1991; ;77(6):1238-47.

173. Luong QT and Koeffler HP. Vitamin D compounds in leukemia. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2005; 97(1-2):195-202.
174. Riddell J, Gazit R, Garrison BS, Guo G, Saadatpour A, Mandal PK, et al. Reprogramming committed murine blood cells to induced hematopoietic stem cells with defined factors. *Cell* 2014; 157(3):549-64.
175. Kim M, Mirandola L, Pandey A, Nguyen DD, Jenkins MR, Turcel M, et al. Application of vitamin D and derivatives in hematological malignancies. *Cancer Lett.* 2012; 319(1):8-22.
176. Brown G, Choudhry MA, Durham J, Drayson MT and Michell RH. Monocytically differentiating HL60 cells proliferate rapidly before they mature. *Exp Cell Res.* 1999; 253(2):511-8.
177. Jeanson NT and Scadden DT. Vitamin D receptor deletion leads to increased hematopoietic stem and progenitor cells residing in the spleen. *Blood* 2010; 116(20):4126-9.
178. Labrecque J, Allan D, Chambon P, Iscove NN, Lohnes D and Hoang T. Impaired granulocytic differentiation in vitro in hematopoietic cells lacking retinoic acid receptors alpha1 and gamma. *Blood* 1998; 92(2):607-15.
179. Taschner S, Koesters C, Platzner B, Jörgl A, Ellmeier W, Benesch T, et al. Down-regulation of RXRalpha expression is essential for neutrophil development from granulocyte/monocyte progenitors. *Blood* 2007; 109(3):971-9.
180. Radujkovic A, Schnitzler P, Ho AD, Dreger P and Luft T. Low serum vitamin D levels are associated with shorter survival after first-line

- azacitidine treatment in patients with myelodysplastic syndrome and secondary oligoblastic acute myeloid leukemia. *Clin Nutr.* 2017; 36(2):542-551.
- 181.Gauzzi MC, Purificato C, Donato K, Jin Y, Wang L, Daniel KC, et al. Suppressive effect of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 on type I IFN-mediated monocyte differentiation into dendritic cells: impairment of functional activities and chemotaxis. *J Immunol.* 2005; 174(1):270-6.
- 182.Penna G and Adorini L. 1 Alpha,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation. *J Immunol.* 2000; 164(5):2405-11.
- 183.Gregori S, Casorati M, Amuchastegui S, Smirolto S, Davalli AM and Adorini L. Regulatory T cells induced by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and mycophenolate mofetil treatment mediate transplantation tolerance. *J Immunol.* 2001; 167(4):1945-53.
- 184.Daniel C, Sartory NA, Zahn N, Radeke HH and Stein JM. Immune modulatory treatment of trinitrobenzene sulfonic acid colitis with calcitriol is associated with a change of a T helper (Th) 1/Th17 to a Th2 and regulatory T cell profile. *J Pharmacol Exp Ther.* 2008; 324(1):23-33.
- 185.Chen WC, Vayuvegula B and Gupta S. 1,25-Dihydroxyvitamin D3-mediated inhibition of human B cell differentiation. *Clin Exp Immunol.* 1987; 69(3):639-46.

- 186.Soleymani T, Hung T and Soung J. The role of vitamin D in psoriasis: a review. *Int J Dermatol*. 2015; 54(4):383-92.
- 187.Cho HJ, Shin DY, Kim JH, Bae JY, Lee KH, See CJ, et al. Impact of vitamin D receptor gene polymorphisms on clinical outcomes of HLA-matched sibling hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Transplant*. 2012; 26(3):476-83.
- 188.Takeyama K and Ohto H. PBSC mobilization. *Transfus Apher Sci*. 2004; 31(3):233-43.
- 189.Bailén R, Pérez-Corral AM, Pascual C, Kwon M, Serrano D, Gayoso J, et al. Factors predicting peripheral blood progenitor cell mobilization in healthy donors in the era of related alternative donors: Experience from a single center. *J Clin Apher*. 2019.
- 190.Namdaroglu S, Korkmaz S and Altuntas F. Management of mobilization failure in 2017. *Transfus Apher Sci*. 2017; 56(6):836-844.
- 191.Fu P, Bagai RK, Meyerson H, Kane D, Fox RM, Creger RJ, et al. Pre-mobilization therapy blood CD34+ cell count predicts the likelihood of successful hematopoietic stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplant*. 2006; 38(3):189-96.
- 192.Machaczka M, Hägglund H, Staver E, Joks M, Hassan M, Wahlin BE, et al. G-CSF mobilized peripheral blood stem cell collection for allogeneic transplantation in healthy donors: Analysis of factors affecting yield. *J Clin Apher*. 2017; 32(6):384-391.

- 193.O'Leary MF, Dunbar NM, Kim HC, Draper NL, Linenberger M, Schwartz J, et al. Venous access for hematopoietic progenitor cell collection: An international survey by the ASFA HPC donor subcommittee. *J Clin Apher.* 2016; 31(6):529-534.
- 194.Lysák D, Koza V and Jindra P. Factors affecting PBSC mobilization and collection in healthy donors. *Transfus Apher Sci.* 2005; 33(3):275-83.
- 195.Dale DC, Cottle TE, Fier CJ, Bolyard AA, Bonilla MA, Boxer LA, et al. Severe chronic neutropenia: treatment and follow-up of patients in the Severe Chronic Neutropenia International Registry. *Am J Hematol.* 2003; 72(2):82-93.
- 196.Ding L and Morrison SJ. Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches. *Nature* 2013; 495(7440):231-5.
- 197.Rao M, Supakorndej T, Schmidt AP and Link DC. Osteoclasts are dispensable for hematopoietic progenitor mobilization by granulocyte colony-stimulating factor in mice. *Exp Hematol.* 2015; 43(2):110-4.e1-2.
- 198.Weber JM, Forsythe SR, Christianson CA, Frisch BJ, Gigliotti BJ, Jordan CT, et al. Parathyroid hormone stimulates expression of the Notch ligand Jagged1 in osteoblastic cells. *Bone* 2006; 39(3):485-93.
- 199.Brunner S, Zaruba MM, Huber B, David R, Vallaster M, Assmann G, et al. Parathyroid hormone effectively induces mobilization of progenitor cells without depletion of bone marrow. *Exp Hematol.* 2008; 36(9):1157-66.

- 200.Parlak M, Kalay S, Kalay Z, Kirecci A, Guney O and Koklu E. Severe vitamin D deficiency among pregnant women and their newborns in Turkey. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015; 28(5):548-51.
- 201.Ates S, Sevket O, Ozcan P, Ozkal F, Kaya MO and Dane B. Vitamin D status in the first-trimester: effects of Vitamin D deficiency on pregnancy outcomes. *Afr Health Sci.* 2016; 16(1):36-43.
- 202.Schwalfenberg G. Not enough vitamin D: health consequences for Canadians. *Can Fam Physician.* 2007; 53(5):841-54.
- 203.Walsh JS, Bowles S and Evans AL. Vitamin D in obesity. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2017; 24(6):389-394.
- 204.Sergeev IN. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ induces Ca²⁺-mediated apoptosis in adipocytes via activation of calpain and caspase-12. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009; 384(1):18-21.
- 205.Caballero-Velázquez T, Montero I, Sánchez-Guijo F, Parody R, Saldaña R, Valcarcel D, et al. Immunomodulatory Effect of Vitamin D after Allogeneic Stem Cell Transplantation: Results of a Prospective Multicenter Clinical Trial. *Clin Cancer Res.* 2016; 22(23):5673-5681.
- 206.Mikrova NA, Jackson JA, Hunninghake R, Kenyon J, Chan KW, Swindlehurst CA, et al. Nutraceutical augmentation of circulating endothelial progenitor cells and hematopoietic stem cells in human subjects. *J Transl Med.* 2010; 8:34.

- 207.O'Kelly J, Hisatake J, Hisatake Y, Bishop J, Norman A and Koeffler HP. Normal myelopoiesis but abnormal T lymphocyte responses in vitamin D receptor knockout mice. *J Clin Invest.* 2002; 109(8):1091-9.
- 208.Grande A, Montanari M, Tagliafico E, Manfredini R, Zanocco Marani T, Siena M, et al. Physiological levels of 1alpha, 25 dihydroxyvitamin D3 induce the monocytic commitment of CD34+ hematopoietic progenitors. *J Leukoc Biol.* 2002; 71(4):641-51.
- 209.Lucas D, Bruns I, Battista M, Mendez-Ferrer S, Magnon C, Kunisaki Y, et al. Norepinephrine reuptake inhibition promotes mobilization in mice: potential impact to rescue low stem cell yields. *Blood* 2012; 119(17):3962-5.
- 210.Méndez-Ferrer S, Lucas D, Battista M and Frenette PS. Haematopoietic stem cell release is regulated by circadian oscillations. *Nature* 2008; 452(7186):442-7.
- 211.Katayama Y, Battista M, Kao WM, Hidalgo A, Peired AJ, Thomas SA, et al. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow. *Cell* 2006; 124(2):407-21.
- 212.Adams GB, Chabner KT, Alley IR, Olson DP, Szczepiorkowski ZM, Poznansky MC, et al. Stem cell engraftment at the endosteal niche is specified by the calcium-sensing receptor. *Nature* 2006; 439(7076):599-603.
- 213.Tanaka H, Ishii A, Sugita Y, Shimizu R, Sato F, Sakuma Y, et al. Impact of Hematopoietic Progenitor Cell Count as an Indicator for Optimal Timing

- of Peripheral Stem Cell Harvest in Clinical Practice. *J Clin Exp Hematop.* 2017; 56(3):150-159.
- 214.Hoggatt J and Pelus LM. Mobilization of hematopoietic stem cells from the bone marrow niche to the blood compartment. *Stem Cell Res Ther.* 2011; 14;2(2):13.
- 215.Lucas D, Battista M, Shi PA, Isola L and Frenette PS. Mobilized hematopoietic stem cell yield depends on species-specific circadian timing. *Cell Stem Cell.* 2008; 3(4):364-6.
- 216.Rigby WF, Stacy T and Fanger MW. Inhibition of T lymphocyte mitogenesis by 1,25-dihydroxyvitamin D3 (calcitriol). *J Clin Invest.* 1984; 74(4):1451-5.
- 217.Grigg AP, Roberts AW, Raunow H, Houghton S, Layton JE, Boyd AW, et al. Optimizing dose and scheduling of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) for mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells in normal volunteers. *Blood* 1995; 86(12):4437-45.
- 218.Chen J, Burns KM, Babic A, Carrum G, Kennedy M, Segura FJ, et al. Donor body mass index is an important factor that affects peripheral blood progenitor cell yield in healthy donors after mobilization with granulocyte-colony-stimulating factor. *Transfusion* 2014; 54(1):203-10.
- 219.Özkurt ZN, Batmaz L, Yeğin ZA and İlhan Ç. Factors affecting hematopoietic stem cell mobilization and apheresis in allogeneic donors: The role of iron status. *Transfus Apher Sci.* 2017; 56(3):470-473.

- 220.Anderlini P, Przepiorka D, Seong C, Smith TL, Huh YO, Lauppe J, et al. Factors affecting mobilization of CD34+ cells in normal donors treated with filgrastim. *Transfusion* 1997; 37(5):507-12.
- 221.de la Rubia J, Arbona C, de Arriba F, del Cañizo C, Brunet S, Zamora C, et al. Analysis of factors associated with low peripheral blood progenitor cell collection in normal donors. *Transfusion* 2002; 42(1):4-9.
- 222.Shimizu N, Asai T, Hashimoto S, Narita M, Kobayashi M, Ito M, et al. Mobilization factors of peripheral blood stem cells in healthy donors. *Ther Apher.* 2002; 6(6):413-8.
- 223.Martín-Antonio B, Carmona M, Falantes J, Gil E, Baez A, Suarez M, et al. Impact of constitutional polymorphisms in VCAM1 and CD44 on CD34+ cell collection yield after administration of granulocyte colony-stimulating factor to healthy donors. *Haematologica* 2011; 96(1):102-9.
- 224.Bozdag SC and Ilhan O. Peripheral blood stem cell mobilization and collection from elderly patients and elderly healthy donor. *Transfus Apher Sci.* 2015; 53(1):8-12.
- 225.Bischoff-Ferrari HA, Borchers M, Gudat F, Dürmüller U, Stähelin HB and Dick W. Vitamin D receptor expression in human muscle tissue decreases with age. *J Bone Miner Res.* 2004; 19(2):265-9.
- 226.MacLaughlin J and Holick MF. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. *J Clin Invest.* 1985; 76(4):1536-8.

227. Błogowski W, Ratajczak MZ, Żyżniewska-Banaszak E, Dołęgowska B and Starzyńska T. Adipose tissue as a potential source of hematopoietic stem/progenitor cells. *Obesity (Silver Spring)* 2012; 20(5):923-31.
228. Gomes AL, Carvalho T, Serpa J, Torre C and Dias S. Hypercholesterolemia promotes bone marrow cell mobilization by perturbing the SDF-1: CXCR4 axis. *Blood* 2010; 115(19):3886-94.
229. Ishihara T, Mishima S, Kodama R, Yoshino I, Adachi E, Suyama T, et al. Low-density lipoprotein as a biomarker for the mobilization of hematopoietic stem cells in peripheral blood. *Transfus Apher Sci.* 2013; 49(3):539-41.
230. Kao RH, Li CC, Shaw CK, Wang TF, Chu SC, Chen SH, et al. Correlation between characteristics of unrelated bone marrow donor and cell density of total nucleated cell in bone marrow harvest. *Int J Hematol.* 2009; 89(2):227-230.
231. Bouwmeester W, Fechter MM, Heymans MW, Twisk JW, Ebeling LJ, and Brand A. Prediction of nucleated cells in bone marrow stem cell products by donor characteristics: a retrospective single centre analysis. *Vox Sang.* 2010; 98(3 Pt 1):e276-83.
232. Perez LE, Alpdogan O, Shieh JH, Wong D, Merzouk A, Salari H, 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(3):300-7.

233. Pornprasertsud N, Niparuck P, Kidkarn R, Puavilai T, Sirachainan N, Pakakasama S et al. The use of hematocrit level for predicting the efficiency of peripheral blood CD34(+) cell collection after G-CSF Mobilization in Healthy Donors. *J Clin Apher.* 2015; 30(6):329-34.
234. Henry CJ, Nemkov T, Casás-Selves M, Bilousova G, Zaberezhnyy V, Higa KC, et al. Folate dietary insufficiency and folic acid supplementation similarly impair metabolism and compromise hematopoiesis. *Haematologica* 2017; 102(12):1985-1994.
235. Egan K, Singh V, Gidron A and Mehta J. Correlation between serum lactate dehydrogenase and stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 40(10):931-4.
236. Pan L, Beverley PC and Isaacson PG. Lactate dehydrogenase (LDH) isoenzymes and proliferative activity of lymphoid cells--an immunocytochemical study. *Clin Exp Immunol.* 1991; 86(2):240-5.
237. Zhu X and Parks JS. New roles of HDL in inflammation and hematopoiesis. *Annu Rev Nutr.* 2012; 32:161-82.
238. Yvan-Charvet L, Pagler T, Gautier EL, Avagyan S, Siry RL, Han S, et al. ATP-binding cassette transporters and HDL suppress hematopoietic stem cell proliferation. *Science* 2010; 328(5986):1689-93.
239. Fermin CR, Lee AM, Filipp SL, Gurka MJ and DeBoer MD. Serum Alanine Aminotransferase Trends and Their Relationship with Obesity and Metabolic Syndrome in United States Adolescents, 1999-2014. *Metab Syndr Relat Disord.* 2017; 15(6):276-282.

- 240.Lee SH, Cho DY, Joo NS, Kim KM and Kim KN. The relationship of alanine aminotransferase to metabolic syndrome in a Korean population. *Turk J Gastroenterol.* 2018; 29(1):52-60.
- 241.Ren J, Sun J, Ning F, Pang Z, Qie L, Qiao Q, et al. Gender differences in the association of hypertension with gamma-glutamyltransferase and alanine aminotransferase levels in Chinese adults in Qingdao, China. *J Am Soc Hypertens.* 2015; 9(12):951-8.
- 242.Ford ES, Schulze MB, Bergmann MM, Thamer C, Joost HG and Boeing H. Liver enzymes and incident diabetes: findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes Care* 2008; 31(6):1138-43.
- 243.Park IH, Kim Y, Kim JS, Cheong JW, Song JW and Min YH. Transfusion-associated iron overload as a predictive factor for poor stem cell mobilization in patients with haematological malignancies. *Transfus Med.* 2008; 18(2):97-103.
- 244.Ozkurt ZN, Yegin ZA, Suyani E, Aki SZ, Acar K, Yagci M, et al. Factors affecting stem cell mobilization for autologous hematopoietic stem cell transplantation. *J Clin Apher.* 2010; 25(5):280-6.
- 245.Tanaka H, Espinoza JL, Fujiwara R, Rai S, Morita Y, Ashida T, et al. Excessive Reactive Iron Impairs Hematopoiesis by Affecting Both Immature Hematopoietic Cells and Stromal Cells. *Cells* 2019; 8(3).

246. Shvartsman M, Bilican S and Lancrin C. Iron deficiency disrupts embryonic haematopoiesis but not the endothelial to haematopoietic transition. *Sci Rep.* 2019; 9(1):6414.
247. Koury MJ and Ponka P. New insights into erythropoiesis: the roles of folate, vitamin B12, and iron. *Annu Rev Nutr.* 2004; 24:105-31.
248. Chen J, Jin J, Song M, Dong H, Zhao G and Huang L. C-reactive protein down-regulates endothelial nitric oxide synthase expression and promotes apoptosis in endothelial progenitor cells through receptor for advanced glycation end-products. *Gene* 2012; 496(2):128-35.
249. Yan SD, Bierhaus A, Nawroth PP and Stern DM. Endothelial precursor cells and CRP on the RAGE: activation or cell death? *J Cardiovasc Pharmacol.* 2009; 53(5):349-51.
250. Chen J, Huang L, Song M, Yu S, Gao P and Jing J. C-reactive protein upregulates receptor for advanced glycation end products expression and alters antioxidant defenses in rat endothelial progenitor cells. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2009; 53(5):359-67.
251. Kim Y, Ryu J, Ryu MS, Lim S, Han KO and Lim IK. C-reactive protein induces G2/M phase cell cycle arrest and apoptosis in monocytes through the upregulation of B-cell translocation gene 2 expression. *FEBS Lett.* 2014; 14;588(4):625-31.
252. Zoellner H, Höfler M, Beckmann R, Hufnagl P, Vanyek E, Bielek E, et al. Serum albumin is a specific inhibitor of apoptosis in human endothelial cells. *J Cell Sci.* 1996; 109 (Pt 10):2571-80.

253. Kim SJ, Davis RP and Jenne CN. Platelets as Modulators of Inflammation. *Semin Thromb Hemost.* 2018; 44(2):91-101.
254. Thomas MR and Storey RF. The role of platelets in inflammation. *Thromb Haemost.* 2015; 114(3):449-58.
255. Stoltzfus RJ. Iron deficiency: global prevalence and consequences. *Food Nutr Bull.* 2003; 24(4 Suppl):S99-103.
256. Percy L, Mansour D and Fraser I. Iron deficiency and iron deficiency anaemia in women. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2017; 40:55-67.
257. Eder AF, Yau YY and West K. The effect of iron balance on platelet counts in blood donors. *Transfusion* 2017; 57(2):304-312.
258. Choi J, Joseph L and Pilote L. Obesity and C-reactive protein in various populations: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2013; 14(3):232-44.
259. Khera A, Vega GL, Das SR, Ayers C, McGuire DK, Grundy SM, et al. Sex differences in the relationship between C-reactive protein and body fat. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94(9):3251-8.
260. Rehman A and Naqvi SA. Correlation between dietary protein intake, serum protein, blood urea nitrogen and serum creatinine level in apparently healthy males and females. *J Pak Med Assoc.* 1979; 29(10):212-5.
261. Nishio S, Maruyama Y, Sugano N, Hosoya T, Yokoo T and Kuriyama S. Gender interaction of uric acid in the development of hypertension. *Clin Exp Hypertens.* 2018; 40(5):446-451.

262. Restrepo Valencia CA and Aguirre Arango JV. Vitamin D (25(OH)D) in patients with chronic kidney disease stages 2-5. *Colomb Med (Cali)* 2016; 47(3):160-166.
263. Jean G, Souberbielle JC and Chazot C. Vitamin D in Chronic Kidney Disease and Dialysis Patients. *Nutrients* 2017; 9(4).
264. Bacchetta J, Zaritsky JJ, Sea JL, Chun RF, Lisse TS, Zavala K, et al. Suppression of iron-regulatory hepcidin by vitamin D. *J Am Soc Nephrol.* 2014; 25(3):564-72.

8. ÖZET

VİTAMİN D DÜZEYİNİN ALLOJENEİK HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE MOBİLİZASYONU ÜZERİNE ETKİSİ

D vitamininin ve vitamin D reseptörünün (VDR) hematopoietik kök hücre (HKH) çoğalması ve mobilizasyonu üzerine olan olumlu etkisi in vitro çalışmalarda ve hayvan deneylerinde gösterilmiştir. Ancak D vitamininin HKH mobilizasyonundaki olası rolünü inceleyen klinik çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı, allojeneik vericilerde D vitamini düzeyinin HKH mobilizasyonu üzerine etkisinin değerlendirilmesidir.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Ağustos 2013 ile Ekim 2018 tarihleri arasında allojeneik HKH vericisi olan 112 erişkin gönüllünün dosya kayıtları geriye dönük olarak incelendi. Mobilizasyon öncesi serum D vitamini düzeylerinin mobilizasyon ile ilişkili parametreler üzerine etkisi incelendi.

Çalışma popülasyonunda ortalama vitamin D düzeyi 15,8(3-63,2) µg/L idi. İlk aferez gününde ortalama çevre kanı ve ürün CD34⁺ hücre sayıları sırasıyla 36,5(7-206) /mL ve 5,3(0,5-22,8) x10⁶/kg olarak saptandı. Ortalama toplam ürün CD34⁺ hücre sayısı 8,1(1,9-22,8) x10⁶/kg idi. Çalışma grubu çevre kanı CD34⁺ hücre sayısına göre iki alt gruba ayrıldığında, çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı 20/mL'nin altında olan grupta 20/mL'nin üzerinde olan gruba göre D vitamini seviyeleri anlamlı düşük saptandı (p=0,035). Ortalama vitamin D düzeyine göre çalışma grubu iki alt gruba ayrıldığında, çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı D vitamini düzeyi düşük olan grupta anlamlı düşük saptandı (p=0,038). Bununla birlikte, D

vitamini düzeyleriyle ürün CD34⁺ hücre sayıları arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Lojistik regresyon analizinde, serum D vitamini düzeyi çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı ile ilişkili bulundu (p=0,042).

Bu çalışmada D vitamini düzeyleri ile çevre kanı CD34⁺ hücre sayısı arasında anlamlı ilişki saptanmış olup, aynı ilişki ürün CD34⁺ hücre sayısı ile gözlenmemiştir. Bu durum daha geniş çalışma gruplarında ürün işlenmesi ve toplanması sürecini kapsayan daha standardize yöntemlerle ileri araştırma gerektirmektedir. D vitamini eksikliğinin dünya çapındaki yüksek prevalansı, replasmanının maliyet etkinliği ve mobilizasyon başarısını iyileştirici olası etkisi göz önünde bulundurulduğunda, D vitamininin HKH mobilizasyonu üzerine olan etkisinin araştırılması klinik önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: D Vitamini; Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli; Hematopoietik Kök Hücre Mobilizasyonu; Allojeneik Donör (Verici)

9. SUMMARY

THE IMPACT OF VITAMIN D LEVELS ON ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL MOBILIZATION

Vitamin D and its receptor (VDR) were indicated to have a positive impact on hematopoietic stem cell (HSC) proliferation and mobilization in in-vitro studies and animal experiments. However, there is no clinical study which investigates the possible role of vitamin D in HSC mobilization. The aim of this study was to evaluate the impact of vitamin D levels on peripheral HSC mobilization in allogeneic donors.

We retrospectively analyzed the data of 112 adult allogeneic donors between August 2013 and October 2018 at Gazi University School of Medicine. The impact of pre-mobilization serum vitamin D levels on parameters related to mobilization was investigated.

Median vitamin D level was found to be 15,8(3-63,2) µg/L in the study population. On the first apheresis day, median peripheral and product CD34⁺ cell counts were 36,5(7-206) /mcl and 5,3(0,5-22,8) x10⁶/kg respectively. Median HSC count in total apheresis product was 8,1(1,9-22,8) x10⁶/kg. When we divide the study group into two subgroups based on peripheral blood CD34⁺ cell count, median vitamin D levels were found to be significantly lower in donors with low peripheral CD34⁺ cell count which was defined as <20/mcl, compared to donors with CD34 level ≥20/mcl (p=0,035). Donors were also divided into two groups

based on median vitamin D levels, peripheral CD34⁺ cell counts were found to be significantly lower in low-vitamin D group compared to high-vitamin D group (p=0,038). However, any significant association was not observed between vitamin D levels and product CD34⁺ cell counts. In logistic regression analysis, serum vitamin D level was significantly correlated with peripheral CD34⁺ cell count (p=0,042).

In this study, we obtained significant association between vitamin D levels and peripheral CD34⁺ cell counts. However, no association was observed between vitamin D levels and product CD34⁺ cell counts. Further evaluation with larger study populations and more standardized procedures including product processing and collection are needed. Considering the high prevalence of vitamin D deficiency worldwide, cost-effectiveness of its replacement and potential role in mobilization success, analyzing the possible impact of vitamin D on HSC mobilization earns more attention.

Key Words: Vitamin D; Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation; Hematopoietic Stem Cell Mobilization; Allogeneic Donor.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Erhan

Soyadı : Hocaoglu

Doğum Yeri ve Tarihi : Bursa, 12.02.1990

Eğitimi :

- Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı (2015-Halen)
- Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (2008-2014)
- Bursa Ali Osman Sönmez Fen Lisesi (2004-2008)

Yabancı Dili : İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar : -

Bilimsel Etkinlikleri :

- Kocoglu H, Karaca M, Tural D, **Hocaoglu E**, Okuturlar Y, Fetullahoglu Z, Gunaldi M, Ciftci R, Tuna S, Yucil OK, Yuce OK, Ozet G, Ozet A and Benekli M. *Hepatitis B and C rates are significantly increased in certain solid tumors: A large retrospective study.* J Cancer Res Ther. 2018; 14:S774-S778.
- Karaca M, Tural D, Akar E, Çil İ, Bayrak S, Ozet G, Yucel OK, **Hocaoglu E** and Ozet A. *Hepatitis B Reactivation Rate Is Higher Undergoing Some*

Cytotoxic Chemotherapy in Patients with Solid Tumors: A Large Retrospective Study. Chemotherapy 2018; 63(5):247-252.

- **Hocaoglu E**, Yeğın ZA, Can F, Özkurt ZN and Yağcı M. *The Impact Of Vitamin D Levels On Peripheral Stem Cell Mobilization In Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Donors.* Abstract Submission, 24th Congress of the European Hematology Association, PB2329.
- **Hocaoglu E**, Yeter H, Derici Ü. *Hipertansiyonun Nadir Bir Sebebi Olarak Lityum Kullanımı.* Poster Bildirisi, 20. Ulusal Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Kongresi, 2018, PS-084.