

T. C.
İSTANBUL BİLİM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**OTOLOG KÖK HÜCRE NAKLİ YAPILAN LENFOMA
VE MULTİPLE MİYELOM OLGULARINDA KÖK
HÜCRE MOBİLİZASYON ETKİNLİĞİ VE HÜCRE
DOZU-ENGRAFMAN İLİŞKİSİ**

Dr. Nuri Barış Hasbal

(UZMANLIK TEZİ)



İSTANBUL, 2013

T. C.
İSTANBUL BİLİM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**OTOLOG KÖK HÜCRE NAKLİ YAPILAN LENFOMA
VE MULTİPLE MİYELOM OLGULARINDA KÖK
HÜCRE MOBİLİZASYON ETKİNLİĞİ VE HÜCRE
DOZU-ENGRAFMAN İLİŞKİSİ**

Dr. Nuri Barış HASBAL

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Mutlu Arat

UZMANLIK TEZİ

ETİK KURUL NO: 44140529/2013-036

İSTANBUL, 2013

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarda etik dışı hiçbir davranışımın olmadığını, tezimdaki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması sonucu elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlar için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dr. Nuri Barış Hasbal

İÇİNDEKİLER

1. ÖZET	1
2. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. MULTİPLE MİYELOM	7
4.1.1. Epidemiyoloji	7
4.1.2. Patogenez	7
4.1.3. Tanı	8
4.1.4. Klinik Özellikler	10
4.1.5. Prognoz	11
4.1.6. Tedavi	11
4.1.7. Tedavi Cevabının Değerlendirilmesi	13
4.2. LENFOİD KANSERLER	14
4.2.1. Sınıflandırma	14
4.2.2. Epidemiyoloji	14
4.2.3. Tanı ve Klinik Özellikler	15
4.2.4. Evreleme ve Risk Değerlendirmesi	16
4.2.5. Tedavi	20
4.2.5.1. Foliküler Hodgkin Dışı Lenfoma Tedavisi	20
4.2.5.2. Manto Hücreli Hodgkin Dışı Lenfoma Tedavisi	22
4.2.5.3. Diffüz Büyük B Hücreli Hodgkin Dışı Lenfoma Tedavisi	22
4.2.5.4. Hodgkin Lenfoma Tedavisi	23
4.3. MOBİLİZASYON	24
4.3.1. Hematopoitik Kök Hücrelerin Biyolojik ve Fenotipik Özellikleri	25
4.3.2. Hematopoitik Kök Hücre Nişi ve Mikrovasküler Dolaşım	25
4.3.3. Mobilizasyon Mekanizmaları	27
4.3.4. Mobilizasyon Rejimleri	30
4.3.5. Mobilizasyon Başarısı ve Hedef CD34 ⁺ Hücre Miktarı	33
4.3.6. Mobilizasyon Başarısızlığı	33
4.4. AFEREZ	35

4.4.1. Aferez Mekanığı	35
4.4.2. Aferez Fizyolojisi	36
4.4.2.1. Antikoagölasyon	37
4.4.2.2. Sıvı Kaybı	38
4.4.2.3. Hücre Kaybı	38
4.4.3. Aferezin Klinik Yan Etkileri	39
4.4.4. Dondurup Saklama İşlemi (Kriyoprezervasyon)	39
4.5. HEMATOLOJİK KANSERLERDE OTOLOG HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE NAKLİ DESTEĞİNDE YÜKSEK DOZ KEMOTERAPİ	40
4.5.1. Hazırlık Rejimleri	43
4.5.2. Kök Hücre İnfüzyonu	43
4.5.3. Destek Tedavi	44
4.5.4. Engrafman	44
5. GEREÇ ve YÖNTEM	45
5.1. HASTALAR	45
5.2. GENEL AKIŞ	45
5.3. İŞLEMLER	47
5.3.1. pCD34 ⁺ Hücre Miktarının Belirlenmesi	47
5.3.2. Aferez İşlemleri	48
5.3.3. Toplanan CD34 ⁺ Hücre Miktarının Belirlenmesi	48
5.3.4. Dondurup Saklama	48
5.3.5. Çözme ve İnfüzyon Öncesi CD34 ⁺ Hücre Miktarının Belirlenmesi	49
5.3.6. Yüksek Doz Kemoterapi	49
5.3.7. Hematopoietik Kök Hücre Nakli	49
5.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	50
6. BULGULAR	51
7. TARTIŞMA	69
8. SONUÇ	77
9. TEŞEKKÜR	79
10. KAYNAKLAR	81

SİMGE VE KISALTMALAR

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

ABVD: Doksorubisin, bleomisin, vinblastin ve dakarbazin içeren kemoterapi rejimi.

ACD: Asit-Sitrat-Dekstroz.

AİVA: Ayarlanmış İdeal Vücut Ağırlığı

AVA: Aktüel Vücut Ağırlığı

BEACOPP: Bleomisin, etoposid, doksorubisin, siklofosfamid/vinkristin, prokarbazin ve prednizolon içeren kemoterapi rejimi

BEAM: Karmustin (BCNU), etoposid, sitarabin ve melfalan içeren kemoterapi rejimi

BKİ: Beden Kitle İndeksi

CHOP: Siklofosfamid, doksorubisin, vinkristin, prednizolon içeren kemoterapi rejimi

CTD: Siklofosfamid, talidomid ve deksametazon içeren kemoterapi rejimi

CVP: Siklofosfamid, vinkristin ve prednizolon içeren kemoterapi rejimi

CXCL-12: C-X-C Kemokin Ligandı-12

CXCR4: C-X-C Kemokin Reseptörü Tip 4

ÇİKY: Çok İyi Kısmi Yanıt

DBBHL: Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma

DHAP: Deksametazon, yüksek doz sitarabin ve sisplatin içeren kemoterapi rejimi

DMSO: Dimetilsülfoksit

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EBMT: Avrupa Kan ve Kemik İliği Transplantasyon Grubu, European Group for Blood and Marrow Transplantation

EORTC: Avrupa Kanser Tedavi ve Araştırma Organizasyonu, European Organization for Research and Treatment of Cancer

EPOCH: Etoposid, prednizon, vinkristin, siklofosfamid ve doksorubisin içeren kemoterapi rejimi

FCM: Fludarabin, siklofosfamid, mitoksantron içeren kemoterapi rejimi

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi, Food and Drug Administration,

FLIPI: Foliküler Lenfoma İçin Uluslararası Prognostik İndeks

G-CSF: Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör

GELF: Foliküler Lenfoma Çalışma Grubu, The Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires

GHSg: Alman Hodgkin Çalışma Grubu, German Hodgkin Study Group

GM-CSF: Granülosit-Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör

HDL: Hodgkin Dışı Lenfoma

HES: Hidroksietil Starch

HKH: Hematopoitik Kök Hücre

HKHN: Hematopoitik Kök Hücre Nakli

HL: Hodgkin Lenfoma

HyperCVAD: Hiperfraksiyone siklofosamid, vinkristin, doksorubisin ve deksametazon içeren kemoterapi rejimi

ICE: İfosfamid, karboplatin ve etoposid içeren kemoterapi rejimi

İg: İmmünglobulin

IL: İnterlökin

IMWG: Uluslararası Miyelom Çalışma Grubu, International Myeloma Working Group

IPI: Uluslararası Prognostik İndeks, International Prognostic Index

ISS: Uluslararası Evreleme Sistemi, International Staging System

İVA: İdeal Vücut Ağırlığı

KY: Kısmi Yanıt

MCP: Klorambusil içeren kemoterapi rejimi

MINE: Mesna, ifosfamid, mitoksantron ve etoposid içeren kemoterapi rejimi

MNC: Mononükleer Hücre

MM: Multiple Miyelom

MP: Melfalan ve prednizolon içeren kemoterapi rejimi

MTO: Mediastinel-Toraks Kitle Oranı

MTY: Mükemmel Tam Yanıt

NCCN: Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı, National Comprehensive Cancer Network

OHKHN: Otolog Hematopoitik Kök Hücre Nakli

PAD: Bortezomib, doksorubisin ve deksametazon içeren kemoterapi rejimi

pCD34⁺: Periferik CD34⁺

R: Rituksimab

SCF: Kök Hücre Faktörü, Stem Cell Factor

SDF-1: Stromal Hücre Kökenli Büyüme Faktörü, Stromal Derived Growth Factor.

SIP: Sfingozin 1 Fosfat

SLAM: Sinyalleyici Lenfosit Aktivasyon İşaretleyicileri, Signalling Lymphocyte Activation Molecules

Standford V: Doksorubisin, vinblastin, mekloreタミン, vinkristin, bleomisin, etoposid ve prednizolon içeren kemoterapi rejimi.

TAD: Talidomid, doksorubisin ve deksametazon içeren kemoterapi rejimi.

TBI: Tüm Beden Işınlaması

TY: Tam Yanıt

VAD: Vinkristin, Doksorubisin ve Deksametazon İçeren Kemoterapi Rejimi

VCAM-1: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü, Vascular Cell Adhesion Molecule -1

VCD: Bortezomib, siklofosfamid ve deksametazon içeren kemoterapi rejimi.

VD: Bortezomib ve deksametazon içeren kemoterapi rejimi

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü, Vascular Endothelial Growth Factor.

VTD: Bortezomib, talidomid ve deksametazon içeren kemoterapi rejimi.

YDKT: Yüksek Doz Kemoterapi

T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu tarafından
11.04.2013 tarih 44140529/2013-036 numaralı karar ile onaylanmıştır.

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: Durie-Salmon evreleme sistemi.

Tablo 2: Uluslararası evreleme sistemi (ISS).

Tablo 3: Ann-Arbor evreleme sistemi.

Tablo 4: Hodgkin lenfoma evrelemesi Ann-Arbor ölçütlerinin Costwold uyarlaması.

Tablo 5: Uluslararası prognostik indeks.

Tablo 6: Foliküler lenfoma için uluslararası prognostik indeks.

Tablo 7: HL erken evre hastalık risk faktörleri.

Tablo 8: GELF kriterleri.

Tablo 9: Standart mobilizasyon rejimleri.

Tablo 10: Engrafman terminolojisi.

Tablo 11: Hastalık tiplerine göre yaş özellikleri.

Tablo 12: Vücut özellikleri ölçümleri.

Tablo 13: Hastaların BKİ'ye göre vücut ağırlığı değerlendirmeleri.

Tablo 14: Hastalık tiplerine göre İVA, AVA ve AİVA dağılımları.

Tablo 15: HL olgularının hastalık tipi dağılımları.

Tablo 16: HDL olgularının hastalık tipi dağılımları.

Tablo 17: MM olgularının hastalık tipi dağılımları

Tablo 18: Hastalık tiplerine göre radyoterapi tedavi dağılımları.

Tablo 19: Hastalık tiplerine göre kemoterapi seri sayısı dağılımları.

Tablo 20: Hastalık tiplerine göre mobilizasyon rejimleri.

Tablo 21: MR seri sayısına göre radyoterapi tedavi dağılımı

Tablo 22: pCD34⁺ hücre sayısının İVA, AVA ve AİVA'ya göre dağılımları.

Tablo 23: Aferez işlemi verileri.

Tablo 24: Toplam CD34⁺ miktarlarının İVA, AVA ve AİVA'ya göre dağılımları.

Tablo 25: Her aferezde birim başına toplanan CD34⁺ hücre sayısı dağılımları.

Tablo 26: Hastalık tipine göre sadece G-CSF ile mobilize edilen hastalarda işlem başı toplanan CD34⁺ hücre sayısı.

Tablo 27: İnfüze edilen CD34⁺ hücre sayısı ile nötrofil ve trombosit engrafman günleri dağılımı.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Sağlıklı durumda HKH nişi.

Şekil 2: Mobilizasyon sırasındaki kemik iliği mikroçevre değişiklikleri.

Şekil 3: Filtrasyon ve santrifüj işlemi için hücrelerin fiziksel özellikleri.

Şekil 4: pCD34⁺ hücre sayısının hastalık tiplerine göre dağılımları.

Şekil 5: pCD34⁺ hücre sayısının yaşa göre dağılımı.

Şekil 6: pCD34⁺ hücre sayısı ve toplam CD34⁺ hücre sayısı arasındaki korelasyonlar.

Şekil 7: Toplanan CD34⁺ hücre sayısının hastalık tiplerine göre dağılımları.

Şekil 8: Toplanan CD34⁺ hücre sayısının yaşa göre dağılımları.

Şekil 9: Pleriksafor sonrası ilk aferezde mononükleer hücre sayısı ile toplanan CD34⁺ hücre sayısı arasındaki korelasyon.

1. ÖZET

Amaç: Multiple miyelom (MM) ve lenfomalar en sık karşılaşılan kanser türleri arasındadır. MM’de otolog hematopoietik kök hücre nakli (OHKHN) destekli yüksek doz kemoterapi (YDKT) 65 yaş altında ve performansı iyi olan 65-75 yaş arası hastalarda standart tedavi yaklaşımını oluşturmaktadır. Benzer şekilde lenfomalarda da özellikle dirençli hastalık ve nüks durumunda HKHN destekli YDKT’nin uygun tedavi seçeneği olduğu bilinmektedir. Granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF), kemoterapi ya da pleriksafor ile kemik iliği nişinde bulunan hematopoietik kök hücrelerin (HKH) periferik kana çıkartılması işlemine mobilizasyon, bu hücrelerin toplanması işlemine ise aferez denilmektedir. Toplanan hücreler dondurulup saklanarak uygun süre ve hazırlık rejimi ardından hastalara infüze edilmektedir. Bu çalışmada, yeni kurulan hematopoietik kök hücre nakli (HKHN) merkezimize başvuran hastaların verilerini bahsedilen tüm basamaklarda değerlendirmeyi, kendi verilerimizi ortaya koyarak literatür verileri ile olan benzerlik ve farklılıkları ortaya koymayı aynı zamanda hastalık ve hastalar için yararlı olabilecek çıkarımları klinik uygulamaya sokabilmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi ile afiliye olan Şişli Florance Nightingale Hastanesi Hematopoietik Kök Hücre Nakli ünitesi konseyinde Ağustos 2010 ile Mayıs 2013 tarihleri arasında OHKHN endikasyonu konulan MM ve lenfoma tanılarına sahip 167 ardışık hasta yeterli kök hücre toplanması hedefi ile alındı. Hastaların dosyaları geriye dönük incelenerek demografik veriler, hastalık verileri, mobilizasyon verileri, aferez verileri ve nakil verileri değerlendirildi.

Bulgular: Hastaların 57’si kadın, 110’u erkekti. Hastaların 31’i Hodgkin Lenfoma (HL), 55’i Hodgkin dışı lenfoma (HDL) ve 81’i ise MM tanılarına sahipti. Hastaların 121 (%72)’inde sadece G-CSF ile mobilizasyon sağlandı. Hastaların mobilizasyon için kullandıkları tedaviler sonucunda aferez öncesinde elde edilen periferik 34^+ ($pCD34^+$) sayısı ortanca $18,0/\mu l$ olarak saptandı. $pCD34^+$ hücre sayısı ile yaş, hastalık tipi, geçmiş tedavi özellikleri arasında herhangi bir ilişki bulunmazken beden kitle indeksi (BKİ) ile ilişkili bulundu. Hastaların $pCD34^+$ hücre sayıları ile sadece G-CSF, kemoterapi veya pleriksafor ile mobilizasyon sonrası toplanan $CD34^+$ hücre sayıları arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (sırasıyla; $p<0,001$, $p=0,002$ ve $p=0,001$). Aferez sonrası elde edilen toplam $CD34^+$ hücre sayısı $33,9-0,2 \times 10^6/kg$ arasında değişirken ortalama $3,3 \times 10^6/kg$

olduğu saptandı. Aferez sayısı arttıkça toplanan CD34⁺ hücre sayısının litre başına düşen miktarının azaldığı saptandı. Hastaların 144'üne başarılı OHKHN yapıldı. Sadece dokuz hastada tüm rejimlere rağmen mobilizasyon başarısı sağlanamadı. Tüm hasta grubunda nötrofil ve trombosit engrafmanı ortanca değeri 11 gün olarak saptandı. Hastalara infüze edilen CD34⁺ hücre miktarı arttıkça nötrofil ve trombosit engrafman süresinin azaldığı izlendi (p<0,0001).

Sonuç: Çalışmamızdaki 167 hastalık homojen kohortumuzda, MM olgularının büyük çoğunluğunda, lenfomaların en az 2/3'ünde tek başına G-CSF kullanılarak mobilizasyon sağlandı. G-CSF ile toplanamayan olguların en az yarısında kemoterapi ve G-CSF ya da 2. ve 3. sırada pleriksafor kullanılarak başarılı mobilizasyon elde edildiği gösterildi. Hastaların işlem öncesi aldıkları kemoterapi yükü arttıkça işlem başarısının düştüğü izlendi. Yaş ve vücut ağırlığına göre mobilizasyon başarısı etkilenmezken, hastaların vücut ağırlıkları ve indeksleri ile mobilizasyon ve HKH toplanması etkinliği arasında bir ilişki görülmedi. Toplanan kök hücre miktarı arttıkça engrafman süreleri kısalırken, dondurarak saklama ve çözme sonrası elde edilen CD34⁺ hücre sayısına göre yapılan kayıp analizinde, kaybedilen CD34⁺ hücre miktarının engrafmanı uzattığı yani olumsuz etkilediği gösterildi.

Anahtar Kelimeler: Hematopoietik Kök Hücre, Mobilizasyon, Aferez, Otolog Kök Hücre Nakli, Yüksek Doz Kemoterapi

2. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)

Objectives: Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is a potentially curative therapy for advanced hematological malignancies, and it also permits the administration of higher doses of chemotherapy to overcome tumor cell resistance. Mobilization is the iatrogenic augmentation of haematopoietic stem cell recirculation that occurs at low levels in steady state. G-CSF, chemotherapy and plerixafor are the most common used agents for mobilization. Mobilized patients underwent apheresis and the products collected by apheresis are cryopreserved. Then cryopreserved CD34⁺ stem cells are re-infused after conditioning regimen. Expected transient hematopoietic failure is compensated by supportive care. In this study, our aim is to evaluate patients' data which acquired from our newly established haematopoietic stem cell transplantation unit in all processes and to compare them with published data.

Materials and Methods: Between August 2010 and May 2013, 167 patients who had indication for autologous HSCT had referred to Şişli Florence Nightingale Hospital HSCT Unit, which is affiliated with Istanbul Bilim University Faculty of Medicine are accepted for this retrospective study. Patients' data are analyzed according to demographic features, received chemotherapies, mobilization, apheresis and stem cell transplantation characteristics.

Results: Totally 31 Hodgkin lymphoma, 55 non-Hodgkin lymphoma and 81 multiple myeloma patients (F/M: 57/110) were included in this study. Mobilization with G-CSF as a single agent resulted optimal CD34⁺ cell yield for 121 patients. After any type of mobilization regimen median count for pCD34⁺ cells obtained was 18.0/µl. pCD34⁺ cell yield correlated with body mass index, but not with age, disease and previous treatment types. There is a close correlation between pCD34⁺ cell count and collected CD34⁺ cells in all types of mobilization regimens as G-CSF, chemotherapy and plerixafor (relatively; p<0.001, p=0.002 ve p=0.001). Median yield of 3,3 x 10⁶/kg CD34⁺ cells/kg was collected with range of 33,9 – 0,2 x10⁶/kg in total apheresis sessions. An inverse correlation between apheresis sessions number and count of CD34⁺ cells is obtained. Successful ASCT is achieved in 144 patients. Mobilization failure encountered only in 9 patients, although all types of mobilization regimen were applied. Median values of both neutrophil and platelet engraftment time for all patients determined as day 11. There is a close inverse correlation

between neutrophil and platelet recovery with total CD34⁺ cell content collected (p<0.0001).

Conclusion: Mobilization is achieved in almost all multiple myeloma patients and most of lymphoma patients with only G-CSF based regimen in our cohort. Half of patients not mobilized with G-CSF can be mobilized with chemotherapy and plerixafor as second or third line regimen. Success of mobilization is found associated with previous chemotherapy cycles but not associated with body weight and indices or age. Engraftment time is shortened with infused amount of CD34⁺ cell yield. Other mechanical processes like cryopreservation reduce CD34⁺ cell yield in product.

Key Words: Haematopoietic Stem Cell, Mobilization, Apheresis, Autologous Stem Cell Transplantation, High Dose Chemotherapy

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl miyelom (MM) tek klondan köken alan plazma hücrelerinin habis çoğalmasdır. Tümör, tümör ürünleri ve konağın yanıtı bir dizi organ disfonksiyonu, kemik ağrısı, kemik fraktürü, böbrek yetmezliği, enfeksiyona eğilim, anemi, hiperkalsemi, pıhtılaşma anormallikleri, nörolojik semptomlar ve hiperviskozite belirtileri ile kendilerini gösterebilirler (1). Lenfoid hücre kanserlerinin hastalık seyirleri en sessizden en agresife geniş bir dağılım göstermektedir. Bu kanserler diferansiyasyonun farklı basamaklarındaki immun sistem hücrelerinden ortaya çıkarlar; morfolojik, immunolojik ve klinik bulgu olarak geniş bir spektrumla sonlanırlar. Lenfoid hücrelerin bazı kanserleri hemen daima lösemi (kemik iliği ve periferik kanın primer tutulumu) olarak bulunurken diğerleri hemen daima lenfoma (immün sistemin solid tümörleri) olarak bulunur (2). MM'da OHKHN destekli YDKT, indüksiyon tedavisi sonrası 65 yaşın altında ve performansı iyi olan 65-75 yaşları arasındaki hastalar için standart tedavi yaklaşımı olma özelliğini korumaktadır (3). Lenfomalarda yapılan çalışmalar sonucunda kemoterapi ve/veya radyoterapi ile ilk yanıt elde edildikten sonra agresif lenfomalarda (T hücreli ve Mantle Hücreli) ilk sıra, diffüz büyük B hücreli lenfomalarda relaps sonrası kemoterapi duyarlı olgularda, Hodgkin hastalarında refrakter/relaps durumda OHKHN destekli YDKT'nin uygun tedavi seçeneği olduğu düşünülmektedir (4, 5).

HKH'ler kan hücre ailesinin her bir bireyine dönüşebilen aynı zamanda kendi kendilerini yenileme özelliğine sahip olan hücrelerdir. HKH'ler periferik kanda ilk defa 1962 yılında saptanmış olup daha sonra kemoterapi sonrası nekahat döneminde periferik kanda daha fazla miktarda HKH bulunduğu gösterilmiştir (6). Periferik HKH'lerin, miyeloablatif tedavinin ardından tam hematopoyetik düzelmeyi sağladığının 1980'lerde gösterilmesi kök hücre çalışmaları için bir milat olmuştur. Kemoterapi, G-CSF ve bir C-X-C kemokin reseptörü (CXC-R) tip 4 inhibitörü olan pleriksafor ile periferik kanda normalde çok az miktarda bulunan HKH'lerin sayısının artması kök hücre mobilizasyonu olarak isimlendirilmektedir (7, 8).

Mobilize edilen hücreler aferez işlemi ile toplanmaktadırlar. Aferez işlemi kan bileşenlerinin ayrılması ve istenen bileşenlerin toplanması olmak üzere iki temel basamaktan oluşmaktadır. Birbirinden farklı birçok teknik ve ekipman bu iki temel basamağın daha etkin çalışmasını ve daha saf ürünler elde edilmesini sağlamak amacıyla

geliştirilmişlerdir. Ayrım, filtrasyon, santrifüj ya da ikisinin birlikte kullanılması şeklinde yapılabilmektedir. Filtrasyon, kan plazmasından hücresel elemanların ayrılmasında partikül büyüklüğünü kullanırken, santrifüj kan bileşenlerinin ayrılmasında ve izole edilmesinde hücreler arası dansite farklılığından yararlanmaktadır.

İmmünolojik açıdan üç farklı tip HKHN mevcuttur. Allojeneik HKHN’de sağlıklı bir verici veya kordon kanı kök hücre kaynağı olarak kullanılmaktadır. Sinjeneik HKHN ise hasta ve verici monozigotik ikizlerdir. Otolog HKHN ise hastadan daha önce toplanan HKH’ler yine hastaya verilmektedir.

Aferez ile toplanan hücrelerin miktarı ve canlılığı OHKHN destekli YDKT temel unsurdur. Genel kabul edilen görüş tam ve hızlı hematopoitik düzelme için gerekli minimum toplanacak hücre miktarının 2×10^6 CD34⁺ hücre/kg olduğu yönündedir. Ayrıca $>5 \times 10^6$ CD34⁺ hücre/kg ürün daha hızlı nötrofil ve trombosit engrafmanına aynı zamanda daha az hastane yatışı ve maliyete neden olduğu bilinmektedir (9).

Bu çalışmada, yeni kurulan hematopoitik kök hücre nakli (HKHN) poliklinik ve servisimize başvuran hastaların verilerini bahsedilen tüm basamaklarda değerlendirmeyi, kendi verilerimizi ortaya koyarak literatür verileri ile olan benzerlik ve farklılıkları ortaya koymayı aynı zamanda hastalık ve hastalar için yararlı olabilecek çıkarımları klinik uygulamaya sokabilmeyi, standart sağlanamamış olan vücut ağırlılığı ve infüze edilen CD34⁺ hücre miktarı değerlendirilmesi konularını değerlendirmeyi amaçladık.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. MULTİPLE MİYELOM

MM, tek klondan köken alan plazma hücrelerinin habis çoğalmasdır. Tümör, tümör ürünleri ve konağın yanıtı bir dizi organ disfonksiyonu, kemik ağrısı, kemik fraktürü, böbrek yetmezliği, enfeksiyona eğilim, anemi, hiperkalsemi, pıhtılaşma anormallikleri, nörolojik semptomlar ve hiperviskozite belirtileri ile kendilerini gösterebilirler (1).

4.1.1. Epidemiyoloji

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 2007 yılında 19.900 yeni MM olgusu teşhis edilmiş ve 10.790 kişi bu hastalıktan hayatını kaybetmiştir. Tanı anında ortanca yaş 68'dir, hastalık 40 yaş altında nadirdir. Yıllık insidansı 4/100.000'tür, dünyadaki dağılımı dikkat çekici şekilde benzerdir. Erkeklerde kadınlara göre daha sıktır. MM, beyaz ırkta kanserlerin %1'ini, tüm hematolojik kanserlerin %13'ünü oluşturmaktadır (1). Türkiye Cumhuriyeti Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2012 verilerine göre MM, hem erkeklerde hem de kadınlarda en sık görülen ilk 10 kanser tipi arasında bulunmamaktadır (10). Hastalığın Türkiye'deki gerçek insidansı bilinmemektedir.

4.1.2. Patogenezi

MM'in, post-germinal-merkez B hücrelerinden gelişen monoklonal plazma hücrelerin premalign çoğalması sonucu geliştiği düşünülmektedir (11). Son dönemlerde yapılan araştırmalar, bu hücrelerin habis yapıya kavuşmalarında çok basamaklı genetik ve mikroçevre etkilerinin bulunduğunu göstermiştir. MM'in sessiz (asemptomatik, smoldering) miyelom ve semptomatik miyeloma dönüşen klinik önemi bulunmayan görece iyi huylu monoklonal gamopatiden geliştiği düşünülmektedir (12).

MM hücreleri, hücre yüzey yapışma molekülleri aracılığıyla kemik iliği stromal hücrelerine ve hücre dışı matrikse bağlanır, böylelikle MM hücre büyümesinin, yaşam süresinin, ilaç direncinin ve kemik iliği ortamında göçünün tetiği çekilir. Bu etkiler MM

hücre - kemik iliği stromal hücre ilişkisi, interlökin (IL)-6, vasküler endotelial büyüme faktörü (vascular endothelial growth factor, VEGF) ve stromal hücre kökenli büyüme faktörü-1 (stromal derived growth factor, SDF-1)'i kapsayan çeşitli sitokinlerin indüksiyonuna bağlıdır. Büyüme, ilaç direnci ve göç sırasıyla Ras/Raf, PI3-K/Akt ve protein kinaz C sinyal yolağı ile ilişkilidir (13).

MM'deki kemik lezyonları osteoblast ve osteoklast fonksiyonları arasındaki dengesizlikten kaynaklanmaktadır. Osteoblastlar Wnt yolağının inhibisyonu sonucunda baskılanırken, osteoklastlar ise nükleer faktör κ reseptör aktivatör yolağı ve makrofaj inflamatuvar protein 1α 'nın fazla çalışmasıyla aktive olmaktadır (14).

4.1.3. Tanı

Yaklaşık yarım yüzyıldır MM için birçok tanı kriteri oluşturulmuştur. Bunların içerisinde en yakın tarihli ve en çok kullanılan kriter Uluslararası Miyelom Çalışma Grubu (International Myeloma Working Group, IMWG) tarafından düzenlenen kriterdir. IMWG'nin kriterleri özellikle basit tanı uygulamaları ve klinik önem göz önüne alınarak oluşturulmuştur. MM tanısı, basitçe en az %10 klonal kemik iliği plazma hücrelerinin aynı zamanda serum ve/veya idrarda monoklonal proteinlerin bulunmasına dayanmaktadır. MM vakalarının %2'sini oluşturan gerçek sekretuar olmayan miyelom vakalarında tanı, kemik iliğinde %30 plazma hücre varlığı ya da biyopsi ile kanıtlanmış plazmositom ile konulmaktadır. MM hiperkalsemi, renal yetmezlik, anemi, kemik hastalığı ve diğer miyelom ilişkili semptomları içeren miyelom ilişkili organ ve doku hasarı varlığına göre semptomatik ya da asemptomatik olarak ayrılmaktadır (15, 16). IMWG, detaylı tıbbi hikaye, fizik muayene, rutin laboratuvar testleri (tam kan sayımı, biyokimyasal analizler, serum ve idrar protein ve immünfiksasyon elektroforezi, monoklonal protein tayini) ve kemik iliği biyopsi/aspirasyonunun yapılmasını önermektedir (16, 17). MM ilişkili kemik hastalığının tayin edilmesinde düz grafilerin değerlendirilmesi hala önemli bir yer tutmaktadır. Manyetik rezonans görüntüleme, semptomatik ancak düz grafilerde herhangi bir patoloji saptanmayan hastalarda aynı zamanda soliter plazmositom varlığında kullanılmaktadır. Durie-Salmon tanı kriterleri kullanılabilirlik açısından önemli olmakla birlikte aynı zamanda tarihi öneme sahip bir diğer tanılama sistemidir. Bu sistemde 'İyi Huylu Monoklonal Gamopati', 'Sessiz (Smoldering) Miyelom' ve 'Multiple Miyelom' tanı kriterleri belirlenmiştir.

Yıllar içerisinde geliştirilen birçok evreleme sistemi klinikte kullanımı oldukça zor olduğundan yeterli ilgiyi görmemiştir. Durie-Salmon evreleme sistemi miyelomda tümör yükünü belirlemek için pratik bir yöntemdir ve standart evreleme sistemi olarak 30 yıldır kullanılmaktadır (Tablo 1). Durie-Salmon Evreleme sistemi hemoglobin düzeyi, kalsiyum düzeyi, M-proteini ve iskelet tutulum derecesi üzerine kurulmuştur. Tüm vücut tümör yükü düşük (Evre 1), orta (Evre 2) ve yüksek (Evre 3) olarak hesaplanır aynı zamanda evreler renal fonksiyon bazında ileri evrelere ayrılır (kreatinin<2 mg/dl ise A, >2 mg/dl ise B).

Tablo 1: Durie-Salmon evreleme sistemi (Türk Hematoloji Derneği Multiple Miyelom Ulusal Tedavi Kılavuzu – Sürüm 1 – Mart 2011’den uyarlanmıştır).

Evre	Kriterler
Evre 1	Hemoglobin >10 g/dL Serum kalsiyum düzeyi normal sınırlarda Kemik taramasında osteoporoz dahil normal sınırlarda M-Protein düzeyi düşük (Ig G<5 g/dL, Ig A<3 g/dl, idrar hafif zinciri<4g/gün)
Evre 2	Evre 1 ve Evre 2’ye uymayanlar
Evre 3	Hemoglobin<8,5 g/dL Serum kalsiyum düzeyi artmış Yaygın iskelet hasarı (3’ten fazla litik lezyon) ve majör kırık M-protein düzeyi yüksek (Ig G>7 g/dL, Ig A>5 g/dl, idrar hafif zinciri>12g/gün)

A: Serum kreatinin düzeyi < 2 mg/dL B: Serum kreatinin düzeyi > 2mg/dL

IMWG serum β 2-mikroglobulin ve albumin düzeyi ile hesaplanabilen üç farklı risk grubunu barındıran Uluslararası Evreleme Sistemi’ni (International Staging System, ISS) yayınlamıştır (Tablo 2). ISS oldukça basit, ama hastaların sağ kalımlarının tahmin edilebilmesi açısından oldukça yararlı bir sistemdir (18).

Tablo 2: Uluslararası evreleme sistemi (ISS) (Türk Hematoloji Derneği Multiple Miyelom Ulusal Tedavi Kılavuzu – Sürüm 1 – Mart 2011’den uyarlanmıştır).

Evre	$\beta 2$ mikroglobulin (mg/dL)	Albumin (g/dL)	Sağkalım (Ay)
Evre 1	<3,5	>3,5	62
Evre 2	<3,5	<3,5	44
	3,5-5,5	
Evre 3	>5,5		29

4.1.4. Klinik Özellikler

Kemik ağrısı, MM’un en sık semptomudur. Hastaların yaklaşık %70’ini etkiler. Ağrı genellikle bel ve kaburgalardadır, sabit lokalize bir ağrının varlığı genellikle patolojik kırık varlığını düşündürmektedir. MM’li hastalarda en sık klinik sorun bakteriyal enfeksiyonlara eğilimdir. En sık enfeksiyonlar pnömoni ve piyelonefrittir. Sıklıkla etkilenen akciğerlerde *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pneumoniae*, üriner sistemde ise *Eschericia coli* ve diğer gram negatif mikroorganizmalar belirlenmektedir. Hastaların yaklaşık %25’inde başlangıçta tekrar eden enfeksiyonlar mevcutken hastaların %75’inden fazlasında bu enfeksiyonların seyri ağırdır.

Böbrek yetmezliği miyelomlu hastaların %75’inde bulunur ve renal sorunlar hastaların neredeyse yarısında mevcuttur. Böbrek yetmezliğinin en sık nedeni hiperkalsemidir. Amiloidin glomerüler birikimi, hiperürisemi, tekrarlayan enfeksiyonlar, ağrı kontrolünde kullanılan steroid olmayan anti-inflamatuar ajanlar ve nadiren böbreğin miyelom hücreleri ile infiltrasyonu renal fonksiyon kaybına katkıda bulunabilmektedir.

Anemi, MM’li hastaların %80’inde mevcuttur. Genellikle normokrom normositer anemidir. Kemik iliğinde normal hücreler yerine tümör hücrelerinin varlığı, tümör tarafından yapılan faktörler ve hematopoez inhibisyonu ile ilişkilidir. Ayrıca hafif bir hemoliz de anemiye katkıda bulunmaktadır. Granülositopeni ve trombositopeni genellikle nadirdir. Antikorla kaplı trombositlerin uygun fonksiyon yapamaması veya M-proteininin faktör 1, 2, 5 ve 8 ile etkileşimi sonucu pıhtılaşma anormallikleri görülebilir.

Hastaların çok az bir kısmında nörolojik sorunlar meydana gelmektedir. Hiperkalsemi letarji, güçsüzlük, depresyon ve konfüzyon oluşturabilir. Hiperviskozite baş ağrısı, halsizlik, görsel bozukluklar ve retinopatiye yol açabilir. Kemik hasarı; kord

kompresyonu, radiküler ağrı, mesane ve barsak kontrolüne kayba neden olabilmektedir. Amiloid birikimi karpal tünel sendromuna yol açabilir (1).

4.1.5. Prognoz

Durie- Salmon evrelendirme sistemine göre Evre 1A hastalarda ortalama yaşam süresi 5 yılın üzerinde iken, evre 3B hastalarda yaklaşık 15 aydır (19). MM'da sitogenetik özellikler sağ kalımın belirlenebilmesi açısından oldukça önemlidir. Ig ağır zincir bölgesinde in situ hibridizasyon ile saptanabilen t(4;14), delesyon 17p13 ve kromozom 1 anomalileri düşük prognoz ile ilişkilendirilmektedir (20). Yüksek riskli hastalık ve düşük prognoz; hipodiploidi, t(4;14), delesyon 17p13, yüksek β 2-mikroglobulin düzeyi, yüksek laktat dehidrojenaz düzeyi ve yüksek ISS evre kategorilerinden en az birine sahip olmak yüksek riskli hastalık ve düşük prognoz ile ilişkilendirilmektedir. Standart risk ise hiperdiploidi, t(11;14), normal β 2-mikroglobulin ve laktat dehidrojenaz düzeyi aynı zamanda ISS evre 1 ile ilişkilendirilmiştir (17, 18, 21).

Diğer prognostik faktörler kemik iliğinde ve dolaşımdaki plazma hücre oranı, C-reaktif protein düzeyi, hepatosit büyüme faktörü, hastanın performans durumu, serum çözünebilir IL-1 reseptörü, kollajen 1'in C çapraz bağlı peptidi, transforme edici büyüme faktörü β ve sindekan1 düzeyidir.

4.1.6. Tedavi

Yıllardır elde edilen klinik bilgiye göre semptomatik MM'da tedavi ivedilikle başlanmalıdır. Asemptomatik MM'de mevcut tedavi tavsiyeleri sadece klinik gözlemlere dayanmaktadır ve konvansiyonel kemoterapi ile bu vakaların tedavi edilmesinin sağ kalım üzerine herhangi bir etkisinin olduğu gösterilememiştir (22, 23).

Kemoterapi kombinasyonları ve yüksek doz melfalan tedavisi MM hastalarının sağ kalım oranlarını arttırmıştır. Ancak neredeyse tüm hastalarda relaps ve hastalık ilişkili ölüm kaçınılmazdır. Henüz küratif bir tedavi geliştirilememiştir. Güçlü bir anti-anjiojenik olan talidomidin refrakter MM hastalarında kullanılmaya başlanması sonucu sağkalım başarıları elde edilmiştir. Başarılı talidomid tedavisinin ardından birçok talidomid analogu kullanılmıştır. Bu talidomid analoglarının immunmodülatör etkilerinin anti-anjiojenik etkilerinden fazla olduğunun gösterilmesinin ardından bu ilaçlara immünmodülatör ilaçlar adı verilmiştir. Bir diğer yeni ajan grubu, moleküler hedefli yaklaşım olan proteozom

inhibitörleridir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) onaylı klinikte kullanımda olan proteozom inhibitörleri; bortezomib ve carfilzomib iken immünmodülatör ilaçlar ise talidomid, lenalidomid ve pomalidomidtir.

OHKHN desteğinde YDKT için uygun olmayan hastalarda 2000 yılından önce tedavi seçeneği melfalan/prednizolon (MP) ile sınırlı idi (24). Standart indüksiyon rejimi olarak kullanılan vinkristin-doksorubisin-deksametazon içeren kemoterapi (VAD) rejimi %55-60'lık yanıt oranları ile az sayıda hastada tam yanıt (TY) sağlamaktadır (25). Talidomid ve deksametazon kombinasyonu tüm sağ kalım yönünden VAD'a üstün bulunmuştur (26, 27).

MP rejimine talidomid eklenmesi, daha fazla yanıt oranı, daha fazla progresyonsuz sağ kalım oranları sağlamıştır (28). Bortezomib ile MP kombinasyonu geniş bir faz 3 çalışmada MP'ye karşı TY, progresyonsuz sağ kalım ve tüm sağ kalım dahil bütün karşılaştırmalarda üstün bulunmuştur (29).

Lenalidomid kök hücre nakli yapılmayan yeni hastalarda MP ile kombine olarak kullanılabilir. Lenalidomid Türkiye'de ruhsat kuralları gereği ancak talidomid ve bortezomibe dirençli vakalarda kullanılabilir.

OHKHN destekli YDKT indüksiyon tedavisi sonrası 65 yaşın altında ve performansı iyi olan 65 yaş üzeri hastalar için standart tedavi yaklaşımı olma özelliğini korumaktadır. İmmünmodülatör ilaçları ve bortezomib tabanlı başlangıç tedavileri kabul edilebilir bir toksisite ile kök hücre toplama kabiliyetini koruyarak erken mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir (30).

OHKHN, TY oranlarını arttırmakta ve MM'de medyan sağ kalımı 12 ay uzatmaktadır (3). OHKHN öncesinde kullanılacak indüksiyon rejimleri; bortezomib ve deksametazon kombinasyonu VD; bortezomib, siklofosfamid ve deksametazon kombinasyonu VCD; bortezomib, doksorubisin ve deksametazon kombinasyonu PAD; bortezomib, talidomid ve deksametazon kombinasyonu VTD; siklofosfamid, talidomid ve deksametazon kombinasyonu CTD; talidomid, doksorubisin ve deksametazon kombinasyonu TAD ve VAD olarak özetlenebilmektedir (19). İki-üç indüksiyon küründen sonra yanıt değerlendirmesi yapılarak kök hücre mobilizasyonuna geçilebilir. Zorunlu nedenlerle veya nakil öncesi en iyi yanıtı elde etmek amacıyla indüksiyon tedavisi 6 küre kadar uzatılabilir. Nakil sonrası 3. ayda yapılan değerlendirmede çok iyi kısmi yanıt (ÇİKY) gösteremeyen hastaların ikinci bir nakilden fayda görebilecekleri de bildirilmiştir

(31). OHKHN sonrasında ÇİKYY elde edilemeyen hastalarda talidomid, bortezomib veya lenalidomid ile konsolidasyon/idame tedavi önerilmektedir (32).

4.1.7. Tedavi Cevabının Değerlendirilmesi

IMWG, 2006 yılında klinik çalışmalarda kullanılabilecek tedaviye yanıt kriterlerini yayınladı (33). Bu kılavuz progresyon kriterlerini, kısmi yanıt (KY,) tam yanıt (TY), çok iyi kısmi yanıt (ÇİKYY), mükemmel tam yanıt (MTY) tanımlamakta ve minör yanıt kategorisini ortadan kaldırmaktadır. Bu kriterlere göre; TY, serumda ve idrarda immünfiksasyonun negatif olması, kemik iliğinde plazma hücrelerinin %5 olması, yumuşak doku plazmositomunun olmaması olarak tanımlanmaktadır. ÇİKYY, serum ve idrar M-proteini elektroforezde yok fakat immünfiksasyonda saptanabiliyor olması veya serum M-proteininde %90 veya daha fazla azalma ve idrar M-proteininin 100 mg/gün'den küçük olması olarak tanımlanmıştır. MTY, TY kriterlerine ek olarak normal serbest hafif zincir oranı ve kemik iliğinde immunhistokimya veya immunflöresan yöntemi ile klonal hücrelerin yokluğunun gösterilmesi olarak değerlendirilmiştir. KY, serum M-proteininde %50 azalma ve 24 saatlik idrar M-proteininin %90 azalması veya 200 mg/günün altına inmesi, serum veya idrarda M-proteinleri ölçülemiyorsa, M-protein kriteri yerine serbest hafif zincirleri arasındaki farkta %50 azalma olması; serum hafif zincirleri de ölçülemiyorsa, M-protein yerine bazal kemik iliği plazma hücre oranının %30 olması kaydı ile plazma hücre oranında %50 azalma olması, başlangıçta varsa yumuşak doku plazmositomlarında %50 azalma olarak tanımlanmıştır. Progresif hastalık, serum M-proteini ve idrar M-proteininde bazale göre %25 artış, serbest hafif zincir düzeyinde bazale göre %25 artış, kemik iliği plazma hücresi yüzdesinde %10 artış, yeni kemik lezyonlarının ve yumuşak doku plazmositomlarının gelişmesi veya mevcut kemik lezyonlarında ve yumuşak doku plazmositomlarının boyutlarında artış, sadece plazma hücre hastalığına bağlanabilen hiperkalsemi gelişmesi olarak tanımlanmıştır. Stabil hastalık ise tam yanıt, çok iyi kısmi yanıt, kısmi yanıt ve progresif hastalık kriterlerine uymayan hastalık olarak tanımlanmıştır.

4.2. LENFOİD KANSERLER

Lenfoid hücre kanserlerinin hastalık seyirleri en sessizden en agresife geniş bir dağılım göstermektedir. Bu kanserler diferansiyasyonun farklı basamaklarındaki immün sistem hücrelerinden ortaya çıkarlar; morfolojik, immunolojik ve klinik bulgu olarak geniş bir spektrumla sonlanırlar. Lenfoid hücrelerin bazı kanserleri hemen daima lösemi (kemik iliği ve periferik kanın primer tutulumu) olarak bulunurken diğerleri hemen daima lenfoma (immün sistemin solid tümörleri) olarak bulunur. Klinik tablo hastalık seyri sırasında değişebilir. Bu değişiklikler lenfomada daha sıktır (2).

4.2.1. Sınıflandırma

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2008 yılında güncellenen lenfoma sınıflamasında çok sayıda farklı lenfoma grupları tanımlanmıştır. Bu sınıflamada; lenfoid neoplazilerin epidemiyolojik, morfolojik, immunofenotipik ve genetik özellikleri önem taşımaktadır. Neoplazilerin hiç biri için spesifik bir antijenik belirleyici yoktur. Bu nedenle doğru tanı için morfolojik özelliklerin antijenik panel ile birlikte değerlendirilmesi ve yorumlanması gereklidir. Lenfoid kanserler ana başlıklar olarak olgun B hücre kanserleri, olgun T hücre ve doğal öldürücü hücre kanserleri, HL ve nakil sonrası lenfoproliferatif hastalıklar olarak sınıflandırılmaktadırlar (34).

4.2.2. Epidemiyoloji

HL sıklığı oldukça durağandır, 2007'de ABD'de 8.190 yeni tanı konulan hasta mevcuttur. Yaş dağılımında iki farklı yaş aralığı dikkat çekmektedir. Hastalık 20'li ve 80'li yaşlarda iki pik yapmaktadır. ABD'de genç yaş grubunda tanı konulan hastaların büyük kısmı HL nodüler sklerozan subtipindedir

Amerika Birleşik Devletleri'nde 1950-1990 yılları arasında HDL sıklığı her yıl için %4 oranında artmıştır. 2007 yılında ABD'de 63.190 yeni HDL olgusu teşhis edilmiştir. HDL, yaşlılar ve erkeklerde daha sıktır. Primer ve sekonder immün yetmezliği olan hastalarda HDL gelişimine eğilim vardır. HDL'lerin subtiplerinin görülme sıklığı coğrafik farklılık göstermektedir. T hücreli lenfomalar batı ülkelerinden ziyade Asya'da daha sık iken foliküler lenfomalar gibi B hücreli lenfomaların bazı subtipleri batı ülkelerinde daha yaygındır.

Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), tüm HDL'nin %30-58'ini oluşturur. Avrupa Birliği'nde yılda 3-4/100.000 yeni olgu görülmekte olup insidansı yaşla birlikte artış göstermektedir. Foliküler HDL, DBBHL'dan sonra en sık görülen lenfoma alt grubudur. ABD'de tüm HDL olgularının %35'ini, Avrupa'da ise %22'sini oluşturmaktadır. Görülme sıklığı son yıllarda artış göstererek 5-7/100.000'e ulaşmıştır. Manto hücreli HDL batı toplumlarında tüm HDL olgularının %3-10'unu oluşturmaktadır ve yıllık görülme sıklığı 2-3/100.000'dir. Erkeklerde 2 kat daha sık gözlenmektedir. Ortalama görülme yaşı 60-65 arası olup tanı anında olguların büyük çoğunluğu ileri evrededir. Ekstranodal tutulum sıktır, en sık kemik iliği, karaciğer, dalak, Waldeyer halkası ve gastrointestinal kanal tutulumu gözlenmektedir. Avrupa Birliği'nde yılda 2,2/100.000 yeni HL görülürken, Türkiye'deki sıklığı konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır (2).

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2011 verilerine göre lenfomalar hem erkeklerde hem de kadınlarda en sık görülen ilk 10 kanser tipi arasında bulunmaktadır (10).

4.2.3. Tanı ve Klinik Özellikler

Tanı için mutlaka eksizyonel lenf nodu biyopsisi tercih edilmelidir. Acil tedavi gerektiren ya da kolay ulaşılamayan yerleşimli lezyonu olan nadir olgularda çekirdek biyopsi uygulanabilir. Patolojik preparatlar güvenilirlik açısından deneyimli patologlar tarafından değerlendirilmeli ve histolojik rapor son DSÖ sınıflamasına göre verilmelidir.

Hastalığın sınıflandırılmasında da öneme sahip klinik bulguların bazıları 'B semptomları' olarak tanımlanmıştır. Bunlar son 6 ay içerisinde vücut ağırlığının %10'undan daha fazlasının kaybı, yineleyen ve açıklanamayan 38°C'nin üzerindeki ateş, yineleyen gece terlemeleri olarak kabul görmektedir. Ağrısız lenfadenomegali hastaların hastaneye başvurmalarına neden olan en sık bulgudur (2).

4.2.4. Evreleme ve Risk Değerlendirmesi

HDL evrelemesinde Ann-Arbor Evreleme Sistemi kullanılmaktadır (Tablo 3).

Tablo 3: Ann-Arbor evreleme sistemi (Türk Hematoloji Derneği, Lenfoma Tanı ve Tedavi Kılavuzu Sürüm 1 – Şubat 2012'den uyarlanmıştır).

Evre 1	Tek lenf düğümü bölgesi (1) ya da tek ekstralenfatik alan (1E)
Evre 2	Diyafragmanın tek tarafında 2 ya da daha fazla lenf düğümü bölgesi (2) ya da diyafragmanın tek tarafında lokal ekstralenfatik yayılımla birlikte bir ya da daha fazla lenf düğümü bölgesi (2E)
Evre 3	Diyafragmanın her iki tarafında lenf düğümü bölgeleri (3), lokal ekstralenfatik yayılım eşlik ediyorsa (3E), dalak tutulumu varsa (3S), lokal ekstralenfatik tutulumla dalak tutulumu eşlik ediyorsa (3SE)
Evre 4	Eşlik eden lenf düğümü tutulumu olsun ya da olmasın bir ya da daha fazla ekstralenfatik organın yaygın tutulumu

HL evrelemesinde Ann-Arbor ölçütlerinin Costwold Uyarlaması kullanılmaktadır (Tablo 4). Kitleli (bulky) hastalık, en büyük çapı 10 cm'nin üzerinde olan kitle ya da ön-arka aksiyer grafisinde torakal 5-6 intervertebral disk düzeyinde hesaplanan en uzun transvers transtorasik çapın 1/3'ünü aşan mediastinal kitle olarak tanımlanmaktadır.

Tablo 4: Hodgkin lenfoma evrelemesi Ann-Arbor ölçütlerinin Costwold uyarlaması. (Türk Hematoloji Derneği, Lenfoma Tanı ve Tedavi Kılavuzu Sürüm 1 – Şubat 2012'den uyarlanmıştır)

Evre 1	Tek lenf düğümü bölgesi (1) ya da tek ekstralenfatik alan (1E)
Evre 2	Diyafragmanın tek tarafında 2 ya da daha fazla lenf düğümü bölgesi (2) ya da diyafragmanın tek tarafında lokal ekstralenfatik yayılımla birlikte bir ya da daha fazla lenf düğümü bölgesi (2E)
Evre 3	Diyafragmanın her iki tarafında lenf düğümü bölgeleri (3), lokal ekstralenfatik yayılım eşlik ediyorsa (3E)
Evre 4	Bir ya da daha fazla ekstralenfatik organın yaygın tutulumu

A: Sistemik Semptom yok

B: Son 6 ay içerisinde vücut ağırlığının %10'undan daha fazlasının kaybı, yineleyen ve açıklanamayan 38°C'nin üzerindeki ateş, yineleyen gece yerlemeleri

Risk değerlendirmesi için uluslararası prognostik indeks (IPI) kullanılırken, foliküler lenfoma için folliküler lenfoma uluslararası prognostik indeks (FLIPI) kullanılmaktadır (Tablo 5 ve 6).

Tablo 5. Uluslararası prognostik indeks (Türk Hematoloji Derneği, Lenfoma Tanı ve Tedavi Kılavuzu Sürüm 1 – Şubat 2012’den uyarlanmıştır).

Kötü Risk Faktörleri	Yaş > 60 Serum LDH > Normal Performans durumu 2-4 (ECOG ölçütleri) Evre 3-4 Ekstranodal tutulum>1 bölge
IPI	Her risk faktörü bir puan olarak değerlendirilir.
Düşük	0-1
Düşük-orta	2
Yüksek- orta	3
Yüksek	4-5

HL’de ileri evre hastalıkta (Evre 3-4) risk değerlendirmesine gerek yoktur. Erken evre hastalıkta ise (Evre 1-2) çeşitli çalışma grupları tarafından önerilen ve kullanılan farklı puanlama sistemleri bulunmaktadır (Tablo 7).

Tablo 6: Folliküler lenfoma için uluslararası prognostik indeks (Türk Hematoloji Derneği, Lenfoma Tanı ve Tedavi Kılavuzu Sürüm 1 – Şubat 2012’den uyarlanmıştır).

Risk Faktörleri	Yaş>60 Serum LDH>Normal Hb<12 g/dl İleri evre (3-4) Nodal bölge sayısı>4
FLIPI	Her risk faktörü bir puan olarak değerlendirilir.
Düşük	0-1
Orta	2
Yüksek	3 ve 3’ün üstü

Tablo 7’da tanımlanan risk faktörlerinden hiçbirisini taşımayan hastalar ‘erken evre iyi prognostik grup’ olarak belirlenirken, risk faktörü taşıyanlar ‘erken evre kötü prognostik grup’ olarak kabul edilirler.

Tablo 7: HL erken evre hastalık risk faktörleri (Türk Hematoloji Derneği, Lenfoma Tanı ve Tedavi Kılavuzu Sürüm 1 – Şubat 2012’den uyarlanmıştır).

Risk Faktörü	NCCN*	GHSG**	EORTC***
Yaş			>50
ESH ve B Semptomları	Asemptomatik >50	Semptomatik > 50 Semptomatik >30	Asemptomatik >50 Semptomatik >30
Mediastinel kitle (MTO)	>0.33	>0.33	>0.35
Lenf düğümü alan sayısı	>3	>2	>3
Ekstranodal hastalık	>1	Herhangi bir	

*NCCN : National Comprehensive Cancer Network

**GHSG : German Hodgkin Study Group

***EORTC: European Organization for Research and Treatment of Cancer

Tedavi öncesinde her hastada B semptomları ve performans değerlendirmesi de dahil detaylı öykü ve fizik muayene, tam kan sayımı ve periferik yayma, eritrosit sedimentasyon hızı, kan biyokimyası, kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi, boyun, toraks ve abdominal bilgisayarlı tomografi, viral seroloji, doğurganlık çağındaki kadınlarda gebelik testi, kardiyak işlevlerin değerlendirilmesi, serum protein elektroforezi ve kantitatif immün globulin düzeyleri, boyun bölgesine radyoterapi uygulanacak hastalarda tiroid fonksiyon testleri, gastrointestinal tutulum şüphesi olan olgularda endoskopik incelemeler, santral sinir sistemi tutulumu bulguları ya da blastik varyant varlığın lumbar ponksiyon yapılması gerekmektedir.

4.2.5. Tedavi

4.2.5.1 Foliküler Hodgkin Dışı Lenfoma Tedavisi

Erken evre hastalıkta (Evre 1-2) düşük tümör yükü olan olgularda tutulu alan radyoterapi (30-40 Gy) tercih edilirken abdominal ya da kitlesel hastalık gibi yüksek tümör yüklü hastalarda 6-8 kür rituksimab-kemoterapi uygulanmalıdır. Yüksek tümör yükü olan olgularda ileri evre gibi sistemik kemoterapi tercih edilebilir. Kemoterapi ya da radyoterapi sonrası kısmi yanıt elde edilmiş olgular izleme alınır. Nüks, başlangıçta dirençli ya da ilerleyici hastalığı olan olgularda ikinci sıra tedavi denenir (35).

İleri evre hastalıkta (Evre 3-4) olguların büyük çoğunluğunda küratif tedavi modalitesinin henüz olmaması, sekonder neoplazi riski ve ayrıca %20-25 olguda spontan gerileme olasılığı bulunması nedeniyle kemoterapi yalnızca semptomatik olgularda düşünülmelidir. Tedaviye başlamada genellikle Foliküler Lenfoma Çalışma Grubu (The Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires, GELF) kriterleri kullanılmaktadır. GELF kriterleri lenfomalarda tedavi verilip verilemeyeceği yönünde karar verilmesinde kılavuz olarak kullanılır. Tablo 8'deki kriterlerden bir veya daha fazlası varsa tedavi kararı verilir.

Tablo 8: GELF kriterleri (Türk Hematoloji Derneği, Lenfoma Tanı ve Tedavi Kılavuzu Sürüm 1 – Şubat 2012'den uyarlanmıştır).

3 ya da daha fazla lenf düğümü bölgesinde ve her biri için 3 cm'den büyük lenfadenomegali varlığı
Nodal ya da ektranodal tümör kitlesinin 7 cm'den büyük olması
B semptomlarının varlığı
Splenomegali
Asit ya da plevral effüzyon
Sitopeni (Hb<10 g/dl, trombosit < 100.000/mm ³ , lökosit< 1000/mm ³)
Lösemik evre (>5000/mm ³ habis hücre)

Tedavi endikasyonu olan hastalarda 8 kür rituksimab (R) ile birlikte 8 kür siklofosfamid-vinkristin-prednizolon (CVP), 6 kür siklofosfamid-doksorubisin-vinkristin-prednizolon (CHOP), 6 kür klorambusil içeren bir tedavi rejimi (MCP), 6 kür fludarabin içeren bir tedavi rejimi (FCM) ve 6 kür bendamustin uygulanabilmektedir. Yoğun kemoterapi için kontraendikasyon bulunan hastalarda tek başına rituksimab, tek başına alkilleyici ajanlar (siklofosfamid, klorambusil) ya da bunların rituksimab ile kombinasyonları kullanılabilir. Kemoterapi sonrası tam yanıt elde edilen olgularda 2 yıl süreyle 2-3 ayda bir rituksimab idame tedavisi önerilmektedir (35).

Nüks ve dirençli hastalıkta, agresif lenfomaya transformasyon riski nedeniyle biyopsi tekrarı kesinlikle önerilmektedir. İkinci sıra tedaviye başlanılmadan önce tedaviye başlama ölçütleri tekrar değerlendirilmelidir. Tedavi endikasyonu olan hastalarda ikinci sıra tedavinin seçimi önceki tedavilerin etkinliğine bağlıdır. Erken nükslerde (<12 ay) çapraz rezistansı olmayan tedavi şemaları seçilmelidir. Bu amaçla 6 kür R-CHOP, 6 kür R-FCM, 6 kür R-bendamustin, 6 kür R-CVP, R ile birlikte ya da tek başına ifosfamid, karboplatin ve etoposid içeren bir kemoterapi (R-ICE/ICE); R ile birlikte ya da tek başına mesna, ifosfamid, mitoksantron ve etoposid içeren bir kemoterapi (MINE) ve yine R ile birlikte ya da tek başına deksametazon, yüksek doz sitarabin ve sisplatin içeren bir kemoterapi (DHAP) kullanılabilir (35).

İkinci sıra tedavi sonrasında pekiştirme tedavisi olarak OHKHN destekli YDKT uygulanabilmektedir. Seçilmiş olgularda nüks hastalıkta olası küratif amaçlı allojeneik hematopoteik kök hücre nakli düşünülebilmektedir.

4.2.5.2. Manto Hücreli Hodgkin Dışı Lenfoma Tedavisi

Hastalık konvansiyonel tedaviler ile kür edilememektedir. Standart bir tedavi yaklaşımı günümüzde yoktur. Yeni tanı olgularda çeşitli rejimler kullanılmaktadır. Kemoterapi protokollerine rituksimab eklenmesi yanıt oranlarını arttırmakla birlikte progresyonsuz sağ kalımı ya da tüm sağkalımı uzattığı henüz kanıtlanmamıştır.

Atmış beş yaş altı uygun hastalarda, yoğun immünokemoterapi uygulanmalıdır. Bu amaçla R ile birlikte veya tek başına hiperfraksiyone siklofosamid, vinkristin, doksorubisin ve deksametazon içeren bir kemoterapi (HyperCVAD); Nordic rejimi; ardışık tedavi (3 kür R-CHOP+3 kür R-DHAP) veya R-CHOP tedavisinin ardından konsolidasyon amaçlı OHKHN destekli YDKT uygulanmaktadır. Atmış beş yaş üstü uygun hastalarda R-CHOP, R-bendamustin ya da R ile birlikte etoposid, prednizon, vinkristin, siklofosamid ve doksorubisin içeren bir kemoterapi (EPOCH) olarak konvansiyonel immünokemoterapi rejimleri kullanılmaktadır. Eşlik eden hastalığı olan ve uygun olmayan hastalar tedavisiz izlenebilir ya da palyatif radyoterapi, tek ajan ritüksimab, klorambusil veya R-Bendamustin uygulanabilmektedir. Kısmi yanıt, ilerleyici hastalık ve nüks durumunda verici olan ve uygun hastalarda allojeneik HKHN uygulanır. Vericisi olmayan uygun hastalarda rituksimablı ya da rituksimabsız bendamustin, bortezomib, kladribin, FCM, lenalidomid, ya da talidomid gibi tedavi seçenekleri mevcuttur. İlk sıra rituksimab içeren tedaviden sonra ilk 6 ayda nüks olan olgularda rituksimab tercih edilmez (36).

4.2.5.3. Diffüz Büyük B Hücreli Hodgkin Dışı Lenfoma Tedavisi

Erken evre (Evre 1-2), düşük riskli olgularda, kitlesel hastalık yoksa, 21 günde bir 6-8 kür R-CHOP uygulanır ya da 4 kür R-CHOP ardından 30-36 Gy tutulu alan radyoterapi verilmesi tercih edilebilir. Erken evre (Evre 1-2) yüksek riskli olgularda (IPI>1) standart yaklaşım olarak 6-8 kür R-CHOP uygulanır. Dört kür sonrası yapılan değerlendirmede tam ya da kısmi yanıtı hastalarda tedavi tamamlanırken tedavi tamamlandığında kısmi yanıtta kalan ya da dirençli ya da ilerleyici hastalığı olanlarda ikinci sıra tedavi uygulanır. İleri evre (3-4) olgularda 21 günde bir 6-8 kür R-CHOP

uygulanır. Dört kür sonrası değerlendirilmede direnç ya da ilerleyici hastalık saptanması durumunda ikinci sıra tedavi planlanır. Hastaların %30'dan fazlasında görülen dirençli ilerleyici hastalık durumunda ilk sıra tedavide yeterli miktarda Rituksimab ve antrasiklin bazlı kemoterapi almış olgularda 2-4 kür platin tabanlı (DHAP/ICE/MINE) veya gemsitabin tabanlı rejimler uygulanmaktadır. Tam ya da kısmi yanıt elde edilen olgularda OHKHN uygulanır. YDKT seçimi merkezin deneyime göre değişmekle birlikte en sık kullanılan rejim karmustin, etoposid, sitarabin ve melfalan içeren bir kemoterapi rejimi olan BEAM'dir. İkinci sıra tedavi sonrasında en az kısmi yanıt elde edilemeyen ya da dirençli hastalarda palyatif radyoterapi ve destek tedavileri uygulanır. Yüksek doz tedavide uygun olmayan hastalarda 6 küre dek benzer ikinci sıra tedavi yaklaşımları uygulanabilir. Paranazal sinüs, üst boyun bölgesi, sert damak, göz, paravertebral kitle, kemik iliği ve testis tutulumu olan ve iki ya da daha fazla ektranodal tutulumu olan olgularda tutulum riski nedeniyle her bir siklusta intratekal metotreksat ve/veya sitarabin uygulaması yapılmaktadır (37).

4.2.5.4. Hodgkin Lenfoma Tedavisi

Klasik tip HL erken evre iyi prognostik grupta kısa süreli kombine kemoterapi [2-4 kür doksorubisin, bleomisin, vinblastin ve dakarbazin içeren bir kemoterapi rejimi (ABVD) ya da 8 haftalık doksorubisin, vinblastin, meklorektamin, vinkristin, bleomisin, etoposid ve prednizolon içeren bir kemoterapi rejimi (Stanford V)] ve ardından tutulu alana 30 Gy radyoterapi önerilmektedir. Radyoterapinin uygun olmadığı hastalarda 6 kür ABVD de uygulanabilir. Klasik tip erken evre kötü prognostik grupta 4-6 kür ABVD kemoterapisi ve ardından 30 Gy tutulan alan radyoterapisi önerilmektedir. Klasik tip ileri evre hastalık genellikle tek başına kombine kemoterapi ile tedavi edilmektedir. Kombine kemoterapi seçeneği olarak 6-8 kür ABVD, 12 haftalık Stanford V ya da 4 kür doz arttırılmış bleomisin, etoposid, doksorubisin, siklofosfamid/vinkristin, prokarbazin ve prednizolon içeren kemoterapi rejimi (BEACOPP) uygulanabilir. Erken direnç ve nükste OHKHN destekli YDKT uygulanmaktadır. Kök hücre nakli için uygun olmayan hastalarda benzer rejimler 6 küre kadar uygulanabilmektedir. İkinci ya da daha sonraki nükslerde standartlaştırılmış bir tedavi rejimi yoktur. Yüksek doz kemoterapi bu hastalarda önemli bir tedavi seçeneği olarak önce G-CSF desteği sonraki yıllarda ise OHKHN eşliğinde uygulanmıştır. Ülkemizde refrakter ve dirençli lenfoma hastalarında HKHN desteği

olmadan G-CSF eşliğinde yüksek doz kemoterapi verilmesi Koç H ve ark. tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada 13 lenfoma vakasında siklofosamid 1500 mg/m²/gün ve etoposid 300 mg/m²/gün, G-CSF eşliğinde verilmiş, 13 hastanın 9'u bu tedaviye yanıt vermiştir (38). Uygun vericisi olanlarda allojeneik hematopoietik kök hücre nakli düşünülebilmektedir. Nodüler lenfosit predominant HL'de evre 1 hastalıkta tek başına 30 Gy tutulu alan radyoterapisi yeterlidir. Evre 2 ve daha yaygın hastalıkta klasik HL tedavi ilkeleri uygulanır. Sınırlı nüks hastalıkta tek başına ritüksimab, yaygın nüks hastalıkta ise kemoterapi ya da ritüksimab ile kombine kemoterapi kullanılabilir (39).

4.3. MOBİLİZASYON

HKHN ileri hematolojik kanserlerde ve kemik iliği bozukluklarında küratif olabilme olasılığı taşıyan tek tedavi olmakla birlikte aynı zamanda tümör hücre direncini kıran yüksek doz kemoterapinin de verilmesini sağlamaktadır. Allojeneik HKHN ise ayrıca greft versus tümör etkisi ile tedavi etkinliği de sağlamaktadır (40). Diğer tedavi yöntemleri ile karşılaştırıldığında HKHN'nin MM'de, ileri evre lenfomalarda ve nüks akut lösemilerde sağ kalım üstünlüğü olduğu bilinmektedir.

HKH'ler periferik kanda ilk defa 1962 yılında saptanmış olup daha sonra kemoterapi sonrası nekahat döneminde periferik kanda daha fazla miktarda HKH bulunduğu gösterilmiştir (6). Periferik HKH'lerin, miyeloablatif tedavinin ardından tam hematopoietik düzelmeyi sağladığının 1980'lerde gösterilmesi kök hücre çalışmaları için bir milat olmuştur. Bu durumun gösterilmesinden önce otolog ve allojeneik HKHN için hastalarda HKH'leri toplamak amacıyla daha zor ve riskli bir yöntem olan, invaziv işlem gerektiren kemik iliği aspirasyonu kullanılmaktaydı. Başlangıçta sadece kemoterapi HKH mobilizasyonu için kullanılırken hematopoietik büyüme faktörlerinin mobilizasyonu arttırdığının gösterilmesinin ardından tek başına büyüme faktörü ya da büyüme faktörü-kemoterapi kombinasyonları kullanılmaktadır. HKH mobilizasyonu için sadece G-CSF ve granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) kullanılabilir. Kasım 2008'de yeni bir ajan olan geri dönüşümlü CXC-R4 antagonisti pleriksafor, HDL ve MM hastalarında G-CSF ile kombinasyon şeklinde mobilizasyonda kullanılmak için onay almıştır.

4.3.1. Hematopoietik Kök Hücrelerin Biyolojik ve Fenotipik Özellikleri

HKH'ler kan hücre ailesinin her bir bireyine dönüşebilen aynı zamanda kendi kendilerini yenileme özelliğine sahip olan hücrelerdir. Oldukça az miktarda saflaştırılmış kök hücre konsantrasyonları, irradyasyon ile kemik iliğinin yok edildiği alıcılarda tüm lenfohematopoietik sistemi yeniden inşa edebilme yeteneğine sahiptir. Kendi kendini yenileme ve farklılaşma özellikleri oldukça sıkı kontrol edilmektedir. Bu kontrol hem intrinsek faktörlerle hem de HKH'lerin olgunlaştığı kemik iliği nişinden kaynaklanan ekstrinsek faktörler sayesinde olabilmektedir. Bu dengenin bozulması HKH havuzunun boşalmasına neden olmaktadır. Kendi kendini yenileme, asimetrik hücre bölünmesi ile sağlanmaktadır. Bölünme sonrasında oluşan yavru hücrelerden biri kendi kendini yenileme özelliğini devam ettirirken diğer yavru hücre ise çoğalır ve farklılaşır (41).

Fare HKH'si, fenotipik olarak uzun dönemli HKH işlevlerini tanımlayan hücre yüzey antijenleri [(Lin-SCA+KIT+(LSK)] ile kimliklendirilebilmektedir (42). Sinyalleyici lenfosit aktivasyon işaretleyicileri olarak bilinen (signalling lymphocyte activation molecules, SLAM) moleküller HKH'leri uyuyan (dorman) kök hücreler (CD48⁻CD150⁺) ve çoğalan hematopoietik öncül kök hücreler (CD48⁺CD150⁺) olarak ileri tanımlanmalarını sağlamaktadır. Hematopoietik kök ve öncül hücre tanımı her iki hücre grubunu da kapsamaktadır. Klinikte CD34 yüzey işaretleyicisi, insan HKH tanımlayıcısı olarak kullanılmaktadır, en ilkel insan HKH'ler CD34⁺CD38⁻ olan hücrelerdir (43).

4.3.2. Hematopoietik Kök Hücre Nişi ve Mikrovasküler Dolaşım

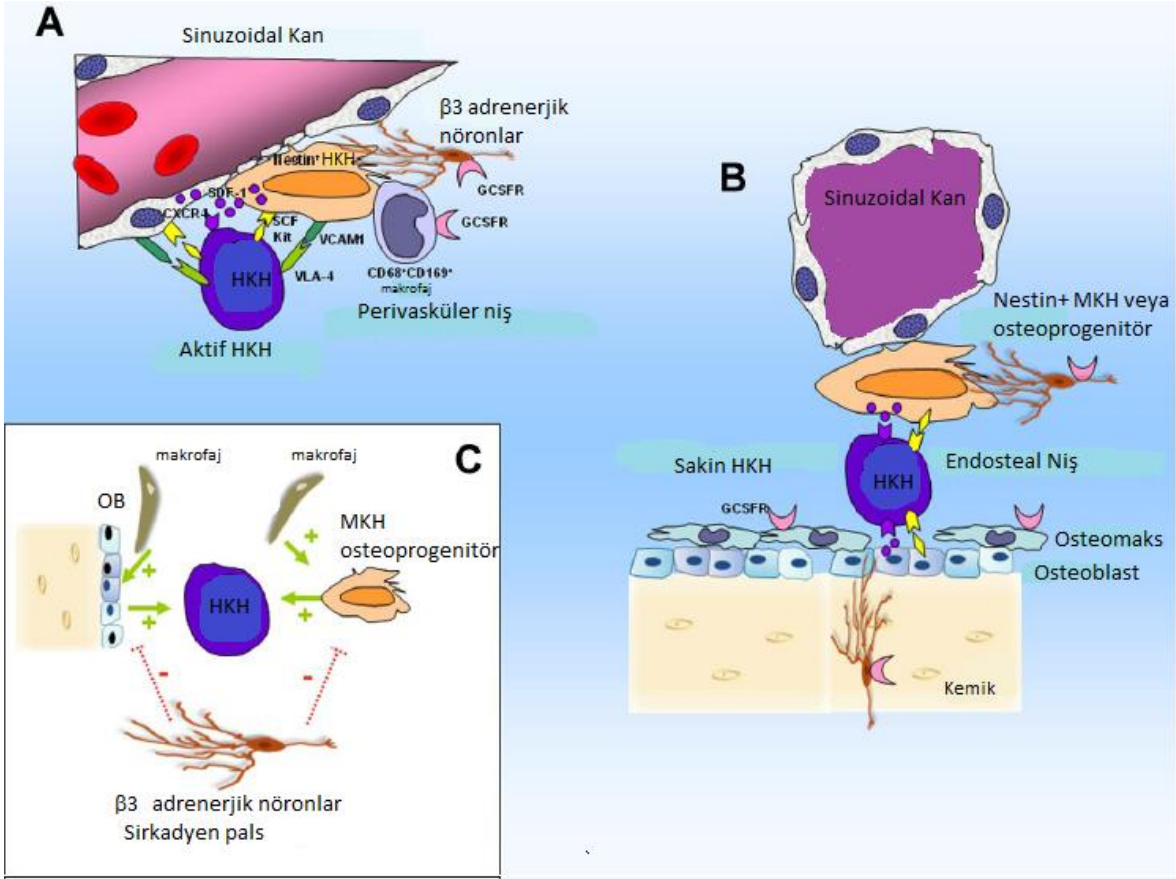
Hematopoietik kök hücreleri (HKH), adezyon için ligandlar sağlayan aynı zamanda da çoğalma ve kendi kendini yenileme gibi olaylar için sinyal veren stromal niş hücreleri tarafından desteklenerek kemik iliğinde adeziv etkileşim ile bağlı halde bulunmaktadır. Fare kemik iliğinde iki farklı anatomik HKH nişi tanımlanmıştır. Bunlardan birincisi perivasküler mezenkimal kök hücreler ve sinüzoidal endotelial hücreler ile HKH'lerin temasta bulunduğu vasküler niş, bir diğeri ise endosteal kemik yüzeyinde osteoblastlarla birlikte konumlandığı endosteal niştir (44) Hematopoietik sistemin yenilenmesi için çoğalan kök hücreler perivasküler nişlerde bulunurken, depo görevi gören, uyuyan HKH'ler ise az kanlanan, hipoksik endosteal nişte bulunmaktadır. HKH'lerin bulunduğu fiziksel nişi de perivasküler pluripotent mezenkimal kök hücreler ve onların osteojenik öncülleri oluşturmaktadır (45). Perivasküler mezenkimal kök hücreler, sinüzoidal

endotelial hücreler ve osteoöncül hücreler bazı adezyon molekülleri üretmektedirler (46). Örneğin vasküler hücre adezyon molekülü-1 (vascular cell adhesion molecule, VCAM)/CD106, HKH'ler tarafından eksprese edilen integrin $\alpha4\beta1$ reseptörüne bağlanırlar. Yine transmembran kök hücre faktörü (stem cell factor, SCF) kit ligandı HKH'lerde bulunan c-kit (CD117)'e bağlanırlar.

Diğer önemli etkileşim ise bir kemotaktik faktör olan stromal hücre kaynaklı faktör-1 (SDF/CXCL12) niş hücreleri tarafından salgılanmaktadır, bu faktörün reseptörü olan CXCR4 ise HKH üzerinde bulunmaktadır. Bu genlerin herhangi birinde meydana gelen delesyon ya da ilgili proteinlerin antagonistler ile durdurulması farelerde HKH mobilizasyonunu arttırmaktadır (47) (Şekil 1).

HKH nişi oluşturan osteoblast ve mezenkimal kök hücrelerin yanında $CD68^+CD169^+$ fagositik makrofajlar bulunmaktadır. Bu makrofajlar, hematopoietik sitokinlerin ve C-X-C kemokin ligandı 12 (CXCL)'nin niş hücrelerinden salgılanması için gereklidir (7). Bu hücrelerdeki azalma niş fonksiyonunun azalmasına, dolayısıyla VCAM-1, SDF-1 ve SCF ekspresyonunun azalmasına neden olarak düşük HKH mobilizasyonuna neden olmaktadır.

Vasküler nişte mezenkimal kök hücreler ile birlikte CXCL12 bağımlı retiküler hücreler, nöral hücreler ve endotelial hücreler bulunmaktadır. Nestin⁺ mezenkimal kök hücreler ve retiküler hücreler daha olgun stromal hücrelere farklılaşabilmektedirler. Osteoblastlarla karşılaştırıldığında nestin⁺ mezenkimal kök hücreler daha fazla miktarda CXCL12, SCF, IL-7 ve VCAM-1 salgılamaktadırlar. Yine aynı hücrelerin miktarlarındaki azalma HKH azalmasıyla, artma ise HKH çoğalmasıyla ilişkilendirilmektedir (48). Retiküler hücreler ile karşılaştırıldığında nestin⁺ mezenkimal kök hücreler kendi kendilerini yenileme özelliğine, kan hücre ailesinin tüm bireylerine dönüşebilme yeteneğine sahiptir aynı zamanda daha ilkel bir hücre sınıfını oluşturarak az sayıda bulunmaktadırlar (49).



Şekil 1: Sağlıklı durumda HKH nişi (L. Bik To ve ark., 2011'den uyarlanmıştır).

Mezenkimal kök hücreler, adrenerjik nöronlar ile yakın etkileşim sonucunda CXCL12 ekspresyonunu ve HKH mobilizasyonunu azaltmaktadırlar (50). Farelerde yapılan birçok çalışmada kemik iliği makrofajlarının yok edilmesi mezenkimal kök hücrelerde HKH'lerin yaşayabilmelerini sağlayan CXCL12, SCF ve VCAM-1 gibi birçok faktörün yapımının azaldığını göstermiştir (7).

4.3.3. Mobilizasyon Mekanizmaları

Dolaşımdaki HKH miktarı oldukça durağan ve az miktardadır. Ancak inflamasyon, kanama ya da miyokard enfarktüsü gibi birçok konak stresi bu sayının artmasına neden olmaktadır (51).

Mobilizasyon, iyatrojenik etki ile normalde periferik kanda çok az miktarda bulunan HKH'lerin sayısının artırılması olayıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalar HKH mobilizasyonunda rol oynayan birçok yolağı göz önüne çıkarmıştır.

Kemoterapi ve G-CSF; VCAM-1, SDF-1 ve SCF gibi adezyon ve kemokin basamaklarının oluşmasını engelleyerek HKH nişlerinde kompozisyon değişikliklerine neden olmaktadır (7). Granülositler ve onların öncül hücreleri, mobilizasyonun sağlandığı kemik iliğinde CD26, C3, C5 ve plazmin aktivasyon kaskadı üyeleri ile uyum gösteren nötrofil elastaz, katepsin G, matirks metalloproteinaz-9 gibi çok sayıda ve fazla miktarda protez salgılamaktadırlar. Bu salgı sonucunda VCAM-1, SDF-1, CXC-R4, c-Kit ve SCF temizlenmekte ve inaktive olmaktadır (52).

Son yapılan çalışmalarda G-CSF ile mobilizasyonda CD 68⁺CD169⁺ makrofajların önemi bulunmuştur (49, 50). G-CSF uygulaması bu makrofajların ortadan kaybolmasına yol açmakta böylelikle niş hücrelerinden SDF-1, SCF ve VCAM-1 ekspresyonunda azalma olmaktadır. Bu nedenle kemik formasyonunu inhibe olmakta, HKH destekleyici niş fonksiyonlarını azaltmakta ve GCSF ile indüklenen mobilizasyon artmaktadır. G-CSF kullanımı ile birlikte periferik kan mononükleer hücrelerinde CD8⁺, CD8⁺28⁺, CD3⁺DR, CD19⁺, CD20⁺ ve CD22⁺ hücrelerin arttığı gösterilmiştir (53).

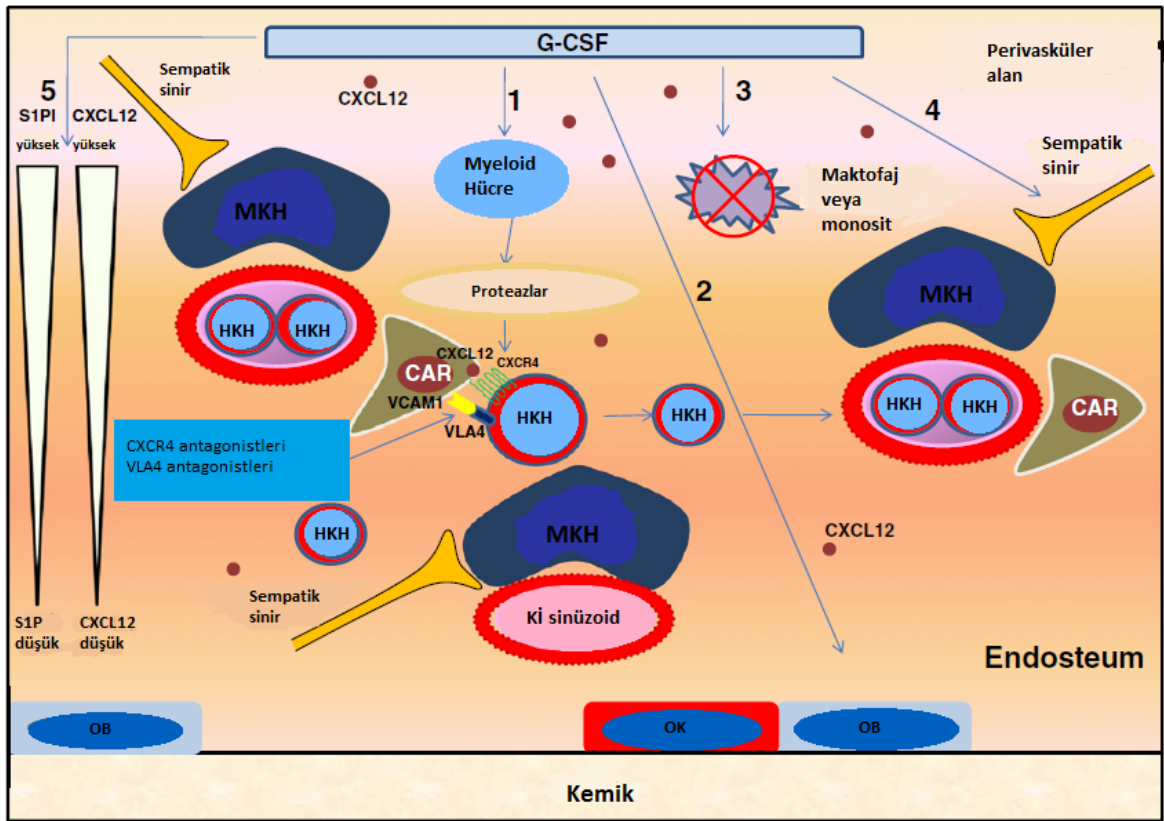
G-CSF uygulaması, kompleman kaskadını ve trombolitik yolağı aktive etmektedir (54). Kompleman aktivasyonu aynı zamanda eritrosit sfingozin 1 fosfat (SIP)'ın da plazmaya salgılanmasına neden olmaktadır. SIP, HKH'ler için kemotaktik bir proteindir, G-CSF ile mobilizasyon sonrasında plazmada SIP gradiyent oluşturarak HKH'lerin dolaşıma katılmasını sağlamaktadır (55).

Farelerde ve insanlarda HKH'lerin dolaşıma katılması sempatik adrenerjik sinir sisteminin kontrolünde, HKH'lerin kendisinden salgılanan CXC-R4 ve HKH nişlerinden salgılanan SDF-1 üretimine bağlı olarak sirkadiyen bir ritm göstermektedir (56). Farelerde, kemik iliğinde SDF-1 ekspresyonu ve HKH'lerde CXC-R4 ekspresyonu gün ışığından 5 saat sonra en yüksek seviyededir ki bu dönemde HKH hücrelerin periferik kan konsantrasyonları zirve yapmaktadır. β 2 agonist klenbuterol farelerde mobilizasyonu arttırmaktadır (57). Bu nedenle zamanlama ve β agonist kullanımı mobilizasyon etkinliğini arttırmak için kullanılabilir iki basit yöntemdir.

Siklofosfamid sonrası nekahat döneminde HKH mobilizasyonu oluşmaktadır. Bu durum osteoblastlar ve osteoblast destekleyicisi endosteal makrofajlarda anlamlı azalma ve CXCL12 ekspresyonu ile ilişkilendirilmektedir. G-CSF'ten farklı olarak siklofosfamid kit ligandının ekspresyonunu azaltmamaktadır, bunun nedeni kemik iliği hücreliliğinin hızlıca yeniden oluşturulabilmesi için HKH'lerin çoğalmasının sağlanabilmesidir.

Siklofosfamid ile G-CSF arasındaki sinerjizm CXCL12'nin tam baskılanması ve kemoterapi ile HKH'lerin kendi kendilerini yenileme özelliklerinin hızlanması ile ilişkilendirilmektedir (46) (Şkil 12).

CXC-R4 antagonistleri, SDF-1 ve onun reseptörü olan CXC-R'ün kemik iliğindeki HKH retansiyonunda oldukça önemli rol oynadıkları göz önünde bulundurulduğunda CXC-R4 antagonisti ya da SDF-1 analoglarının uygulanmasıyla efektif HKH mobilizasyonun sağlanması hipotezi oldukça gerçekçidir. Pleriksaför şu an mevcut tek CXC-R4 antagonistidir ve uygulanmasının ardından 6.-9. saatlerde HKH'lerin periferik kanda zirve sayıya ulaşmasını sağlamaktadır. Pleriksaför direkt olarak CXC-R4'e bağlanır ve hücrelerdeki kemotaktik sinyal mekanizmasını sekteye uğratar (8). Pleriksaför aynı zamanda CXC-R4⁺ osteoblastik ve endotelial hücrelerin dolaşıma katılmasını da sağlamaktadır (58).



Şkil 2: Mobilizasyon sırasındaki kemik iliği mikroçevre değişiklikleri (Motabi IH, DiPersio JF. ve ark, 2012'den uyarlanmıştır).

G-CSF ile SDF-1'in baskılanması kısmen gerçekleşmektedir ve en iyi koşullarda bile bu durum %80 olarak görülür (59). G-CSF'ten farklı olarak pleriksaför makrofaj

yolağını saf dışı bırakarak endosteal osteoblastların kaybını arttırmamaktadır. Birbirlerinden farklı etki mekanizmaları nedeniyle G-CSF ve pleriksafor sinerjistik etki göstermektedirler. Ancak pleriksaforun çığır açıcı bu etkilerine rağmen hala hastaların %30'unda mobilizasyon başarısızlığı gözlenmektedir (Şekil 2).

$\alpha 4$ integrin antikorları (CD49d), integrin $\alpha 4\beta 1$ HKH'lerin VCAM-1 ile bağlanmalarını sağlamaktadır. Bir insan fonksiyon engelleyici anti-CD49d antikoruna olan Natalizumab'ın 300 mg'lık tek doz uygulanması dolaşımdaki CD34⁺ hücrelerin 5 kat kadar artmasını sağladığı gösterilmiştir (60). Yine tek doz $\alpha 4\beta 1$ integrin inhibitörü BIO5192 kullanımı uygulamadan 6 saat sonra HKH'lerin mobilizasyonunu sağladığı ve pleriksafor ile additif etki sağladığı gösterilmiştir (61). Bu bağlamda $\alpha 4\beta 1$ blokerlerinin G-CSF ve pleriksafor ile mobilizasyon başarısızlığı olan hastalarda kullanımı ilgi uyandırmaktadır.

4.3.4. Mobilizasyon Rejimleri

Miyeloid büyüme faktörlerinin yaygın kullanımı öncesinde miyelosüpresif kemoterapiler mobilizasyon için kullanılmaktaydı. Mobilizasyonda miyelosüpresif kemoterapiye büyüme faktörlerinin ek yarar sağladığını gösteren ilk çalışma 1989 yılında yayınlamıştır. Bu çalışmada 7 hastada siklofosamid tedavisinin ardından GM-CSF kullanılarak elde edilen üründe 1000 kat artış saptanmıştır (62). Standart mobilizasyon rejimleri Tablo 9'de özetlenmiştir.

Günümüzde birçok merkez mobilizasyon için G-CSF'i tek başına kullanılabilirken eş zamanlı ya da hastalık spesifik kemoterapi takiben ya da orta-yüksek doz siklofosamid ile birlikte de uygulanabilmektedir. Kemoterapi sonrasında mobilizasyon için G-CSF'in, GM-CSF'e göre daha başarılı olduğu gösterilmiştir (63). Nüks ya da refrakter HL ve HDL'da otolog HKHN ile tedaviye devam edebilmek için kurtarma kemoterapisi ile en azından kısmi yanıtın elde edilmesi gerekmektedir. Bu durum lenfomanın kemoterapi duyarlılığı, kemosenitif hastalık olarak betimlenmektedir. En azından kısmi yanıt elde edilemeyenler kemorefrakter olarak tanımlanmaktadırlar. Birçok hastada bu hedefin başarılabilmesi için 2 ya da 3 seri kemoterapinin kullanılması gerekmektedir.

Tablo 9. Standart mobilizasyon rejimleri (Motabi IH, DiPersio JF. ve ark., 2012'den uyarlanmıştır).

Rejim	Uygulama
Tek G-CSF	Aferez işlemleri tamamlanana kadar günlük 10µg/kg tek doz ya da 5 µg/kg günde iki kez subkutan kullanılır. Aferez kullanımının 5. gününde başlanılır.
G-CSF + Siklofosfamid	Siklofosfamid: 1. gün 1,5-4 g/m ² intravenöz infüzyon şeklinde kullanılır G-CSF:2.-5. günler arasında başlanıp aferez işlemleri tamamlanana kadar günlük 5-10 10µg/kg subkutan kullanılır. Aferez, lökosit sayısı>2x10 ⁹ /L olunca başlanılır (Genellikle 12-15. Günler arası)
G-CSF + Pleriksafor	G-CSF: Aferez işlemleri tamamlanana kadar günlük 10µg/kg günlük subkutan kullanılır Pleriksafor: 4. günün akşamında başlanılmak üzere en fazla 4 güne kadar 240 µg/kg subkutan kullanılır Aferez işlemi G-CSF kullanımının 5. günü başlanılır.

Eğer mobilizasyon amacıyla siklofosfamid kullanılacak ise genellikle siklofosfamid infüzyonunun bitiminden sonraki 2.-5. günlerde G-CSF başlanılmaktadır. Yapılan çalışmalar bu yöntemde G-CSF'in erken ya da geç başlanılmasının mobilizasyon üzerine herhangi bir etki yapmadığını göstermiştir (64). Günlük 5 µg/kg'ın üstündeki dozlarında toplanan HKH miktarını arttırmadığı gösterilmiştir (65). G-CSF ile siklofosfamid kombinasyonu ile daha fazla HKH toplanmasına rağmen, G-CSF'in tek başına kullanılması ya da siklofosfamid ile kombinasyonunun kullanılmasının nakil sonrasında hematolojik düzelmede herhangi bir etkisinin bulunmadığı gösterilmekle birlikte kombinasyon tedavisinin toksisitesi daha fazladır (66).

Pleriksafor'un MM ve HDL hastalarında etkinlik ve güvenlik değerlendirilmesi Devine ve ark. tarafından yapılmıştır (67). Pleriksafor uygulanmasından 6 saat sonra lökosit sayısında ve pCD34⁺ hücre sayısında hızlı bir artışa neden olmaktadır. Bu çalışmada 80, 160 ve 240 µg/kg olmak üzere üç farklı doz kullanılmıştır. Yüksek dozların daha fazla CD34⁺ hücreyi mobilize ettiği istatistiksel olarak anlamlı şekilde gösterilmiştir.

Birçok farklı faz 2 çalışmada HDL ve MM hastalarında G-CSF ile pleriksafor kombinasyonu kullanımı değerlendirilmiştir (68, 69). Kombinasyon şeklinde kullanım tek başına G-CSF kullanımına göre daha başarılı sonuçlar vermiştir. İki büyük, çok merkezli, randomize çift körlü faz 3 çalışma, G-CSF+plasebo ve G-CSF+pleriksafor kombinasyonlarını karşılaştırmıştır (70, 71). Bu iki çalışmanın sonucunda pleriksafor FDA onayını 2008 yılında almıştır. Bu çalışmalarda mobilizasyon başarısızlığı plasebo grubunda %53 iken pleriksafor grubunda %13 olarak saptanmıştır. Medyan aferez gün sayısı pleriksafor grubunda 1 günken, plasebo grubunda 3 olarak saptanmış, pleriksafor grubundan hiçbir hastada tekrar mobilizasyon gerekmezken plasebo grubunda 7 hastada tekrar mobilizasyon gerekmiştir. Her iki çalışmada da pleriksafor minimal yan etki düzeyi ile hastalar tarafından iyi tolere edilebilmiştir. Maliyet, pleriksafor kullanımında en önemli dezavantajdır. Bu nedenle pleriksafor kullanımı tek başına G-CSF ile mobilizasyon başarısızlığı gelişen hastalarda kullanım şeklinde sınırlandırılmıştır. Ülkemizde bu koşula kemoterapi sonrası G-CSF altında mobilizasyon başarısızlığı gereği de eklenmiştir.

Osteoblastlar, kök hücre nişi için oldukça önemli düzenleyici hücrelerdir, bu nedenle HKH mobilizasyonunu arttırmak amacıyla kullanımları araştırılmaktadır. Hematopoitik kendi kendini yenileme işlevini düzenleyen sinyal yolları, osteoblastlar üzerindeki reseptörler aracılığıyla parathormon ile uyarılabilmektedir. Farelerde parathormonun kemik iliği depleksiyonuna neden olmadan hematopoitik öncül hücreleri mobilize ettiği gösterilmiştir (72). Son dönemde yapılan bir faz 1 çalışma daha öncesinde mobilizasyon başarısızlığı yaşanan 20 hastanın 11'inde G-CSF ile birlikte aferez öncesi 4 günlük parathormon kullanımı ile mobilizasyon sağlanabilmiştir (73). Yine aynı çalışma, bir mobilizasyon ajanı olarak parathormonun etkin ve güvenli olduğu gösterilmiştir.

FDA tarafından Crohn hastalığı ve multiple skleroz için onaylanmış bir ajan olan anti-VLA-4'in dolaşımdaki CD34⁺ hücre sayısında artışa neden olduğu gösterilmiştir (74). Natalizumab ile α 4-integrin blokajı ve pleriksafor ile CXCR4 blokajı kombinasyonunun kök hücre mobilizasyonu üzerine olumlu etkilerinin bulunduğu gösterilmiştir (75).

Nüks ya da refrakter hematolojik kanserli mobilizasyon başarısızlığı olan hastalarda yapılan bir çalışmada, hastalar kemoterapi, G-CSF ve rekombinan insan büyüme hormonu (100 μ g/kg/gün) ile tekrar mobilize edilmişler. Medyan 3 günlük aferez ile hastaların %87'sinde mobilizasyon işlemi başarıyla gerçekleştirilmiştir (76).

Bir başka çalışmada retinoik asit ve reseptör- α -spesifik antagonist VTP195183 birlikte uygulanan farelerde kemik iliğinde immatür granülosit öncüllerinin sayısının arttığı G-CSF tabanlı HKH mobilizasyonuna sinerjistik etki gösterdiği ortaya konulmuştur (77).

4.3.5. Mobilizasyon Başarısı ve Hedef CD 34⁺ Hücre Miktarı

Son dönemlerde aferez sonrasında elde edilen üründe CD34⁺ hücre sayımı, HKH miktarını belirlemek için kullanılmaktadır. Bu sayım için en çok kullanılan yöntem, otomatik kan analiz sistemi ile elde edilen toplam beyaz küre sayısının, akım sitometrik yöntemle elde edilen CD34⁺ hücre yüzdesi ile çarpılması işlemi olan çift platform testidir. En uygun mobilizasyon sonucu, tam hematopoietik düzelmesinin sağlanması için gerekli olan CD34⁺ sayısının ulaşılması ile elde edilebilir. Son dönemlerde genel kabul edilen görüş tam ve hızlı hematopoietik düzelme için gerekli minimum toplanacak CD34⁺ hücre miktarının 2×10^6 hücre/kg olduğu yönündedir. Ayrıca $>5 \times 10^6$ CD34⁺ hücre/kg ürün daha hızlı nötrofil ve trombosit engrafmanına aynı zamanda daha az hastane yatışı ve maliyete neden olduğu bilinmektedir (9).

HDL hastalarında yapılan bir çalışmada $8,2 \times 10^6$ /kg'dan fazla CD34⁺ hücre infüzyonunun yapılmasının lenfosit düzelmesi, olaysız sağ kalım ve tüm sağ kalımda daha iyi sonuçlar verdiği gösterilmiştir (78). Yüksek miktarda CD34⁺ hücre infüzyonunun engrafmanı hızlandırdığı, daha hızlı ve güvenli bir düzelme sağladığı bilinmekle birlikte kesin bir korelasyon ya da eşik değer henüz net olarak bilinmemektedir.

4.3.6. Mobilizasyon Başarısızlığı

Mobilizasyon başarısızlığı kişiye özel genetik özellikler ile ilişkili olabileceği gibi aynı zamanda hastanın yaşı daha önce aldığı tedaviler ya da hastalık gibi faktörlere de bağlı olabilmektedir. Sorun, HKH ile ilgili intrinsek nedenler, niş sayısının azalması ve kalitesinin bozulması, kemik iliği makrofajları ya da β adrenerjik nöronlar gibi destekleyici unsurların haraplanması gibi birden fazla nedene bağlı olabilmektedir.

Hastalığın kemik iliğini tutmuş olması mobilizasyon başarısızlığı ile ilişkilidir. Bu durumun sağlıklı nişlerin kanser hücreleri tarafından haraplanmasına ya da sınırlı sayıda bulunan nişler için kanser hücreleri ve HKH'ler arasında bir yarışma olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca HDL, sessiz lenfoproliferatif hastalıklar ve akut lösemi bağımsız risk faktörleri olarak belirlenmiştir (79).

Mobilizasyon başarısızlığı, hastalara daha önce uygulanan kemoterapi serilerinin fazlalığı ile doğru orantılıdır. Birçok sitotoksik tedavi ve hedefli tedaviler için kullanılan ajanlar HKH'lerde ve onların barındığı nişlerde geri dönüşümsüz hasarlara neden olmaktadır. Melfalan ve karmustin gibi DNA çapraz bağ oluşturucu ajanlar, fludarabin gibi pürin analoglarının mobilizasyon başarısızlığı açısından yüksek risk oluşturdukları bilinmektedir (80).

Hücre döngüsünün S fazına etki eden sitotoksik ajanlar sessiz HKH'leri ve niş hücrelerini haraplayarak HKH rezervini azaltmaktadırlar. Fludarabin hem hematopietik öncül hücrelere zarar vererek hem de nişe zarar vererek çift etki göstermektedir. HiperCVAD gibi yüksek yoğunluklu ve doz bağımlı rejimler mobilizasyon başarısızlığı yüksek risk gurubunu oluşturmaktadır. Lenalidomid, 4 siklus tedaviden sonra kullanıldığında mobilizasyon başarısızlığı ile ilişkilidir. Lenalidomid, HKH'lerin motilitesini azaltarak aynı zamanda da anti-anjiyojenik etkisinden dolayı mobilizasyon başarısızlığına neden olmaktadır (81). Uzun süreli imatinib kullanımı kemik döngüsünü azaltmakla ilişkilendirilmektedir. Bu durum HKH nişini de etkilemektedir. Bu nedenle ilaç toplama işleminden 3 hafta önce kesilmelidir. Kemik iliğine yapılan yüksek doz radyoterapi de mobilizasyon başarısızlığı ile ilişkilidir. Bu durum HKH'lere, HKH nişlerine ve niş destekleyici hücrelere karşı olan direkt hasar ile ilişkilidir. (82)

Mobilizasyon başarısızlığı genellikle 60 yaş üzeri hastalarda gözlenmektedir (82). Yaşla birlikte telomer kısalması nedeniyle yaş ilişkili HKH sayısının azalması ile açıklanabilmektedir. Ayrıca farelerde yaşla birlikte mezenkimal öncül hücrelerin ve osteoöncül hücrelerin sayısının azaldığı bu yüzden HKH'lerin korunamadığı gösterilmiştir (83). Üçüncü olarak da yaşla birlikte kemik yapımı ve endosteal yüzeylerdeki osteoblast sayısının azalması ile nişlerde bulunan HKH'lerin sayısının azalması katkıda bulunmaktadır. Bu bağlamda 3 hafta boyunca günlük paratiroid hormon enjeksiyonununun farelerde HKH sayısını arttırdığı gösterilmiştir (73).

Yaklaşık %5 hastada yukarıda bahsedilen risk faktörlerinden herhangi biri bulunmamasına rağmen mobilizasyon başarısızlığı saptanmaktadır. Bu hastalardaki sorun henüz anlaşılabilmiş değildir.

4.4. AFEREZ









Günümüzde sıklıkla kullanılan periferik kök hücre toplanması işlemi 1970'lerin ortasında deneysel olarak başlamıştır. Bu dönemlerde klinik olarak kullanılan HKH'ler, genel anestezi altında kemik iliğinden yüzlerce aspirasyon işlemi sonucu elde edilirken, ürüne de ek işlemlerin yapılması gerekmektedir. Yine o dönemlerde hücreleri kimliklendirmek ve saymak için akım-sitometrik yöntemler bulunmadığından hematopoietik düzelme sağlayacak olan hücreler, hücre kültüründe büyütülerek tanınmaktaydılar. Bu kültürlerdeki koloni oluşturucu üniteler, HKH sayısını göstermekteydi. Richman ve ark. solid organ tümörleri için verilen kemoterapi sonrasında nekahat döneminde dolaşımdaki HKH sayısının arttığını göstermişlerdir (84). Barlogie ve ark. otolog HKHN kullanarak dirençli MM vakalarında ölümcül dozda radyoterapi ve kemoterapi vererek hastalıkla başa çıkabilmeyi sağlamıştır (85). Bu değerlendirme ardından dirençli MM ve lenfomalarda OHKHN destekli YDKT ana tedavi yöntemlerinden biri haline gelmiştir.

4.4.1. Aferez Mekanizması

Aferez işlemi kan bileşenlerinin ayrılması ve istenen bileşenlerin toplanması olmak üzere iki temel basamaktan oluşmaktadır. Birbirinden farklı birçok teknik ve ekipman bu iki temel basamağın daha etkin çalışmasını ve daha saf ürünler elde edilmesini sağlamak amacıyla geliştirilmişlerdir. Ayrım, filtrasyon, santrifüj ya da ikisinin birlikte kullanılması şeklinde yapılabilmektedir. Filtrasyon, kan plazmasından hücresel elemanların ayrılmasında partikül büyüklüğünü kullanırken, santrifüj kan bileşenlerinin ayrılmasında ve izole edilmesinde dansite farklılığından yararlanmaktadır (Şekil 3).

Bir tüpe santrifüj uygulandığında olgun eritrositler altta toplanırken, plazma üst kısımda kalmaktadır, arada ise retikülositler, granülositler, mononükleer hücreler ve trombositler bulunur. Granülosit fraksiyonunda nötrofiller, bazofiller ve eozinofiller bulunurken, mononükleer hücre fraksiyonunda ise lenfositler, monositler, periferik kan öncül hücreleri ve lösemik hastalarda blastlar bulunmaktadır. Aferezde santrifüj ayırıştırıcılar aralıklı ve sürekli akım olmak üzere iki şekilde sınıflanmışlardır. Aralıklı akım ayırıştırma işleminde ayırım, en yoğun dansiteli ürünle hazne dolana kadar devam eder, hazne dolduktan sonra işlem durur, hazne boşaltılır ve işlem tekrar başlar. Sürekli

akım ayrıştırma ise düşük, orta ve ağır dansiteli fraksiyonlar ayrı haznelerde toplandığı için işlem tamamlanana kadar hazne boşaltılmasına gerek kalmamaktadır.

FİLTREASYON			SANTRİFÜJ		
		Çap (mm)			Yoğunluk (spesifik ağırlık)
	Plazma			Plazma	1025-1029
	Trombosit	3		Trombosit	1040
	Eritrosit	7		Lenfosit	1070
	Lenfosit	10		Granülosit	1087-1092
	Granülosit	13		Eritrosit	(1093-1096)

Şekil 3: Filtrasyon ve santrifüj işlemi için hücrelerin fiziksel özellikleri.

Filtrasyon, partikül boyutlarındaki farklılık nedeniyle kan bileşenleri birbirlerinden ayrılmasıdır. Genellikle plazma diğer hücresel bileşenlerden ayrılmaktadır. Örneğin, en küçük hücresel bileşen olan trombositlerin çapı yaklaşık 2-3 mikron civarındadır, efektif filtrelerdeki por genişliği ise 0,6 mikrondur. Kan akımı membran yüzeyine basınçla temas ettirildiğinde plazma porlardan geçer hücresel bileşenler ise porlardan geçemeyerek hasta ya da vericiye tekrar geri verilir. Günümüzde kullanılan birçok membran paralel lif filtrelerinin bir plastik silindir içerisine konulması ile oluşturulmuştur. Dönen filtrelerin kullanılması sayesinde filtrasyon ve santrifüj birlikte yapılabilmektedir (86).

4.4.2. Aferez Fizyolojisi

Hem kan ve kan ürünü vericileri hem de terapötik aferez işlemi için vücutta meydana gelen önemli fizyolojik değişiklikler göz önünde bulundurulmalıdır. İşlem hem hemodinamik hem de dilüsyonel bazı değişikliklere neden olduğu için yan etkilerle ilişkilendirilmektedir.

4.4.2.1. Antikoagölasyon

Dolaşımdaki hücrenel bileşenler ve plazma bileşenlerinin aktivasyonunu minimum seviyeye indirebilmek için aferez işlemi antikoagölasyona ihtiyaç duymaktadır. Sitrik asit, tüm insan hücrelerinde oldukça fazla miktarda bulunan bir bileşendir. İki karboksil grubundan biri divalen katyonlar ile birleşince sitrat adını almaktadır. Sitrat, pozitif değerlikli kalsiyum iyonlarını bağlayarak kalsiyum bağımlı pıhtılaşma faktörlerini etkisiz bırakarak işlev göstermektedir. Asit-Sitrat-Dekstroz (ACD) A, ACD B ve sodyum sitrat gibi birçok sitrat tabanlı antikoagölün madde aferez için kullanılmaktadır. Uygun antikoagölasyon miktarı ile toksite arasında bir denge bulmak oldukça zordur. Total vücut kalsiyumunun %99'u kemiklerde fosfat iyonlarıyla birlikte karmaşık kristal yapı halinde bulunmaktadır. Tahmini olarak 1000 mg kemik dışı kalsiyum, hücre dışı alanda bulunmaktadır. Serum normal kalsiyum düzeyi 10 mg/dl'dir. Plazma kalsiyumunun % 40'ı özellikle albumin gibi plazma proteinlerine bağlı iken, %13'ü sitrat, fosfat, laktat gibi anyonlarla bağlı halde bulunmaktadır. Geriye kalan %47'lik serbest kısmın antikoagölasyon için verilen sitrat ile bağlanması sonucunda iyonize kalsiyum seviyesinde azalma meydana gelmektedir. Trombosit vericilerinde yapılan bir araştırmada, plazma sitrat seviyesindeki 0,5-0,6 mmol/L'lik artış, kalsiyum seviyesinde 0,1 mmol/L'lik bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (86). Sitrat, kalsiyum gibi magnezyumu da bağlamaktadır. Geniş hacimli HKH toplama işlemi sırasında iyonize magnezyum seviyesinin başlangıca göre %39 oranında düştüğü gösterilmiştir.

Magnezyum desteği, iyonize magnezyum seviyesindeki düşüşü engellemekle birlikte klinik önemi bilinmemektedir. Sitrat metabolizması aynı zamanda hidrojen iyonlarını da kullanmaktadır. Özellikle maksimum bikarbonat ekskresyonu düşük olan renal yetersizlikli hastalarda sitrat infüzyonu metabolik alkalozu neden olmaktadır. Bu durum, serum pH'sını koruyabilmek için solunumsal yükün artmasının yanında hipokalemi semptomlarının da daha aşikar şekilde ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Aferез işlemi sırasında çok sık olmasa da heparin ile de antikoagölasyon uygulanabilmektedir. Bu yöntem ABD, Kanada ve Kuzey Avrupa'da nadir kullanılmaktadır. İşlem için uygun heparin dozu, derin ven trombozu tedavisi için kullanılan doza benzer bir dozdur ve 0,5-2,0 IU/ml arasında değişmektedir. Heparin plazma anti-trombin aktivitesini yaklaşık olarak 1000 kat kadar arttırmaktadır. Antitrombin faktör 2, 9 ve 10'u inaktive eden bir serin

proteaz inhibitörüdür. Heparin genellikle kısa süreli olarak aferez işlemi süresince verildiği için ciddi yan etkiler oluşturmamaktadır (86).

4.4.2.2. Sıvı Kaybı

Afereze karşı gelişen fizyolojik yanıtlardan bir diğeri de sıvı kayıplarına karşı gelişenlerdir. Bu durum tüm kanın alınıp, işlenip, ilgili kan ürünlerinin ayrıştırılıp geri kalanının tekrar verilmesi nedeniyle oluşmaktadır. İnvasküler hacim değişiklikleri, hemodinamik değişikliklere neden olmaktadır. Sıvı yüklenmesi özellikle kardiyak ya da renal yetmezliği olan hastalarda sorun yaratmaktadır. Hemodinamik değişiklikler, aralıklı akım santrifüj işlemi yapılan vericilerde, sürekli akım santrifüj işlemi yapılanlara göre daha fazla ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda farklı işlem tipleri farklı hemodinamik değişikliklere neden olmaktadır. Örneğin trombosit aferezinde görece az miktarda hacim kaybı (yaklaşık 300 ml) 60-100 dakika içerisinde gelişmekteyken, hematopoietik öncül hücre aferezinde daha yüksek hacimli kayıp oluşmaktadır. Aferez sırasında kaybedilecek hacmi öngörmek için boy, kilo ve hemotokrit düzeyini temel alan bazı hesaplama sistemleri geliştirilmiş olmasına rağmen çok sık kullanılmamaktadır. Dilüsyonel etkiyi asgari düzeye indirmek için onkotik basıncı sağlayacak genellikle protein temelli yerine koyma sıvıları verilmektedir. İzotonik içerisinde %4-5'lik albumin solüsyonları en sık kullanılan yerine koyma sıvılarını oluşturmaktadır. Bu sıvılar protein içermelerinden dolayı onkotik basıncı sağlarlar aynı zamanda enfeksiyon geçişini engellemek için de bazı ön işlemlere tabi tutulurlar.

Aferez sırasında protein olmayan onkotik aktif yerine koyma sıvısı olarak pentastark solüsyonlarının hetastark solüsyonlarına göre daha uygun olduğu bildirilmiştir. Yine onkotik basıncı sağlamak için kullanılan materyallerden biri olan taze donmuş plazma ise sadece trombotik trombositopenik purpura gibi spesifik hastalıklarda, plazma faktör eksikliğinin giderilmesi gereken durumlarda, aktif kanayan hastalarda dilüsyonel koagülopatinin engellenmesi gereken durumlarda kullanılmaktadır (86).

4.4.2.3. Hücre Kaybı

Aferez cihazı içerisinde yüksek hacimlerde kan dolaştığı için istemli ya da istemsiz hücre kaybı ortaya çıkmaktadır. Örneğin COBE Spectra aleti ile yapılan araştırmalarda; işlem öncesinde trombosit sayısı ortalama 288.000/ μ l olarak saptanırken işlem sonrasında

ortalama 217.000/ μ l saptanmış, sırasıyla bu değerler beyaz küre için 7000/ μ l'den 6120/ μ l'ye gerilerken ortalama hemotokrit değerinde ise %44,9'dan %43,6'ya azalma olduğu tespit edilmiştir. Yine bir başka çalışmada HKH aferezi işlemi sırasında trombosit sayısında 1. Gün %61, 2. Gün %75 ve 3. Gün ise %81'lik bir azalma olduğu gösterilmiştir. Trombosit sayısındaki azalma için aferez işlemi dışında G-CSF kullanımının fizyolojik etkisi de elbette göz önünde bulundurulmalıdır (86).

4.4.3 Aferezin Klinik Yan Etkileri

Aferez, nadir de olsa oldukça ciddi yan etkilerle karşımıza çıkmaktadır. Aferez ilişkili komplikasyon ve yan etkilerin araştırıldığı 63 hastada 381 işlemi değerlendiren bir çalışmada hastaların %17'sinde aferez ilişkili komplikasyonlar gözlenmiştir. Bu çalışmada en sık rastlanılan yan etki sitrat ilişkili yan etkiler olurken, en ciddi yan etkiler ise katater yerleştirme işlemi ile ilgili olup bu vakalardan iki tanesi fatal seyretmiştir. Hipofibrinojemi, 11 hastada gözlenirken aktif kanama hastaların sadece birinde olmuştur. Dört hastada hipotansiyon gelişirken 2 hastada ise vazovagal senkop gözlenmiştir. Sitrat ile ilişkili hipokalsemi semptomları 7 hastada gözlenmiş olup bu hastalarda intravenöz kalsiyum replasmanı yapılmıştır. Ürtiker, stafilokoksik bakteriyemi ve hemopnömotoraks birer hastada meydana gelmiştir. Antikoagülan olarak kullanılan sitratla ilgili yan etkilerden önceki bölümlerde bahsedilmiştir. Vazovagal reaksiyonlar aferez işlemi sırasında ve sonrasında en sık karşılaşılan yan etkileri oluşturmaktadır. Aferez işlemine bağlı gecikmiş tipte yan etkilerde gözlenmektedir. Hemoraji, tromboz, taze donmuş plazma kullanımına bağlı viral enfeksiyon, katater ilişkili bakteriyel septisemi, anemi ve hipoproteinemi bunlardan başlıcalarıdır. Fransız sağlık girişlerine göre aferez işleminin mortalitesi 1-2/10.000 arasındadır ve mortalite ayaktan aferez yapılan hastalardan ziyade hastanede yatan ve ciddi hastalık durumu olan kişilerde görülmektedir (86).

4.4.4. Dondurup Saklama İşlemi (Kriyoprezervasyon)

Dondurup saklama işlemi, hasta HKHN için hazırlanana kadar aferez sonrası elde edilen ürünün sayılması, bazı testlerden geçirilmesi ve bekletilmesine olanak sağlamaktadır. Bu işlem otolog nakiller için elzem olmakla birlikte allojeneik nakiller için de hastanın hazırlama rejimine karar verilmesi ve verici aferezinden sonra hastada gelişebilecek klinik durumların yönetilebilmesi için gereklidir. Ancak birçok merkez

özellikle akraba dışı HKHN'lerinde bu işlem olmadan infüzyon yapılmasını seçmektedirler.

Dondurup saklama işleminin hücre canlılığının ve infüzyon sırasında verilen hücre sayısının azalması gibi bazı riskleri barındırmaktadır. Ancak HKH'lerin diğer çekirdekli hücelere nazaran dondurup saklama işlemine daha dayanıklı oldukları bilinmektedir. Hücreleri canlı hale getirebilmek için uygun konsantrasyonlarda protein ve kriyo-koruyucu ajanların izotonik solüsyonunun içerisinde bulunması gerektiği gayet iyi bilinmektedir. Otolog greftler için protein kaynağını aferez sırasında elde edilen otolog plazma oluşturmaktadır. Protein, hücre membranının parçalanmasını engellemektedir. Kriyo-koruyucu maddeler intrasellüler ya da ekstrasellüler olarak sınıflandırılmaktadırlar. Neredeyse tüm merkezlerde kullanılan kriyo-koruyucu madde ise bir intrasellüler koruyucu olan dimetilsülfoksit (DMSO)'dur. Soğukta DMSO hücreler üzerine görece olarak daha az toksiktir, %5-10'luk konsantrasyonlarda dahi bulunsa infüzyon öncesinde üründen arındırılması gerekmemektedir. Hidroksietil stark (HES), DMSO ile birlikte kullanılabilen bir diğer kriyo-koruyucu maddedir. HES, hücreleri dehidratasyondan koruyan ekstrasellüler bir kriyo-koruyucu maddedir. Dondurup saklama işlemi, DMSO ile birlikte donma noktasına kadar kademeli dondurma, hızlı dondurma ve donmuş durumun korunması şeklinde bir süreç seyretmektedir. Birçok laboratuvar önceden programlanmış dondurma-saklama alanlarında kontrollü saklama işlemi yapmaktadırlar. Ürünler laboratuara geldikten sonraki 24 saat içerisinde dondurup saklama işlemi gerçekleştirilmektedir (87).

4.5. HEMATOLOJİK KANSERLERDE OTOLOG HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE NAKLİ DESTEĞİNDE YÜKSEK DOZ KEMOTERAPİ

Gelişmiş kemoterapi ve radyoterapi yöntemleri kanser hücrelerini neredeyse tamamına yakını ortadan kaldırmasına rağmen doz bağımlı olarak sağlıklı hemotopietik hücelere de zarar vermektedirler. Hematolojik kanserler başta olmak üzere birçok kanser hücresinde daha fazla yıkım daha durağan bir sağ kalım ile ilişkilendirilmektedir. Ancak bu yüksek yoğunluklu tedavilerden sonra hastalarda ölümcül miyelosüpresyon ve miyeloablasyon gelişmektedir. Hayvan çalışmalarında ardından da insanlarda yapılan çalışmalarda bu ölümcül yan etkinin tedavi öncesinde toplanan HKH'lerin tedavi

sonrasında nakledilmesiyle üstesinden gelinebildiği gösterilmiştir. Yirminci yüzyılın ortalarından beri öncül hücrelerin dondurularak saklanabileceği düşüncesi mevcutken klinik olarak kullanımı oldukça fazla zaman almıştır. 1959 yılında 3 lösemi hastasında tüm vücut ışınlamasının ardından remisyon sırasında toplanan otolog kemik iliği hastalara verilmiş, bir hastada sağkalım ve remisyon elde edilebilmiştir (88). 1970'li yıllarda YDKT'nin OHKHN desteğiyle birlikte verilebilir olduğu sıkça bildirilmeye başlanmıştır.

İmmünolojik açıdan üç farklı tip HKHN mevcuttur. Allojeneik HKHN'de hasta verici olarak kullanılmamaktadır. Sinjeneik HKHN ise hasta ve verici monozigotik ikizlerdir. Otolog HKHN ise hastadan daha önce toplanan HKH'ler yine hastaya verilmektedir.

Ülkemizde ilk başarılı periferik OHKHN 1992 yılında yapılmış olup bu yaklaşımı kullanan aferez ve nakil merkezi sayısı yıllar içerisinde hızlıca artmıştır. Avrupa Kan ve Kemik İliği Transplantasyon Grubu (European Group for Blood and Marrow transplantation, EBMT) 1998 yılı verilerine göre OHKHN'de merkezlerin %93'ünün bu yöntemi kullandığı gösterilmiştir (89). 2008 yılında ise periferik HKH kullanımı %98'e ulaşmış olup OHKHN en çok lenfoproliferatif hastalıklarda (%69) ve solid tümörlerde (%16) yapılmaktadır (90)

Yaklaşık 20 yıl önce MM tedavisinde yüksek doz tedavilerden, bu tedavi şekli ile ilaç direnciyle karşılanmadığının gösterilmesiyle söz edilmeye başlanmıştır. Birçok randomize çalışmanın sonucunda elde edilen sağ kalım verileri sonucunda MM'de OHKHN sık kullanılan bir tedavi modalitesi olmaya başlamıştır (91). Başlangıç Fransız çalışmaları ve MRC-7 çalışmaları alkilleyici ajanlar ve kortikosteroid içeren konvansiyonel tedavi rejimleri ile karşılaştırıldığında OHKHN'nin daha iyi tüm sağkalım verileri ortaya çıkardığı gösterilmiştir. Aynı zamanda birçok çalışmada sadece tüm sağ kalım verilerinde düzelmeye sağlanması değil aynı zamanda hastalıksız sağ kalım üzerinde de diğer tedavi yöntemleri ile karşılaştırıldığında daha iyi sonuçlar elde edildiği gösterilmiştir (92, 93, 94). Ancak bu çalışmalar aynı zamanda bize nakil için uygun olan hastaların hepsinde OHKHN yapılmasının gerekli olmadığını da göstermiştir. PETHEMA çalışması, bir faz 3 çalışması olarak başlangıç tedavisinde OHKHN ile konvansiyonel tedavileri karşılaştırmıştır. Bu çalışmada HKHN'nin başlangıç tedavisi olarak diğer tedavilerden herhangi bir üstünlüğü olmadığı gösterilmiş, nakil dışı tedaviye iyi yanıt veren hastaların başlangıç tedavisi olarak OHKHN'e ihtiyaç duymayabilecekleri belirtilmiştir (94). S9321 ve MAG91 çalışmaları da

yine aynı şekilde OHKHN'nin başlangıç tedavisi olarak herhangi bir üstünlüğü olmadığı gösterilmiş, ancak başlangıç tedavisine iyi yanıt vermeyen hastalarda erken ya da geç OHKHN'nin yeri de araştırılmıştır (92, 93).

Fransız Gruplararası Miyelom Ekibi (Intergroupe Francophone du Myelom, IFM), hazırlık rejiminde tüm vücut ışınlamasının (TBI) yerini araştırmıştır. Bu çalışma sonucunda yüksek doz melfalan tedavisi ile birlikte TBI kullanımının daha iyi sonuçlar verdiğinin gösterilmesinin ardından hazırlık rejimine bu tedavi eklemiştir (95). MM hastalarında renal yetersizlik tanı anında genellikle bulunmaktadır, nakil açısından diğer koşulların sağlandığı durumlarda hastaların renal yetersizlik düzeylerine OHKHN'nin faydalı olduğu da ispatlanmıştır (96). Diğer kanserlerden farklı olarak MM'de hastaların daha önce aldıkları tedavi rejimlerine olan yanıtları ile OHKHN yanıtları arasında herhangi bir ilişki bulunmamaktadır (97). Dolayısıyla artık uygun hastalarda OHKHN standart bir tedavi uygulaması haline gelmiştir.

İkinci OHKHN önceki nakil sonrasında nüks olan hastalarda bir kurtarma tedavisi olarak, ya da yine birinci nakilden uzun süre sonra konsolidasyon tedavisi olarak kullanılabilir. OHKHN sonrasında nüks eden 172 hastanın alındığı bir çalışmada, hastaların 54'üne ikinci OHKHN yapılmış, kalanına ise kurtarma kemoterapisi verilmiştir. Tekrarlanan HKHN ile tüm sağ kalımda bir iyileşme olduğu gözlenirken ilk HKHN'nin ardından 18 aydan daha kısa sürede nüks saptanan hastalarda herhangi bir sağ kalım yararı gösterilememiştir (98).

MM tedavisi için allojeneik kök hücre nakli, bu hasta grubunda tedavi ilişkili yüksek toksisite nedeniyle çok başarılı sonuçlar vermemiştir. IFM99-03/99-04 klinik çalışmasında yüksek riskli MM hastaları çalışmaya dâhil edilmiştir, hastaların 65'ine allojeneik HKHN yapılırken, 219 hastaya ikinci OHKHN yapılmıştır. Medyan tüm sağ kalım ve hastalısız sağ kalımda herhangi bir istatistiksel fark saptanmamıştır (99).

Randomize klinik çalışmalar OHKHN destekli YDKT'nin nüks ya da refrakter DBBHL ve HL'da standart tedavi olduğunu göstermiştir (100). Ancak diğer lenfoma subtipleri için durum hala tartışmalıdır. Özellikle foliküler lenfoma için standart bir yaklaşım bulunmama ile birlikte nüks hastalıkta OHKHN destekli YDKT ön planda düşünülmektedir. Aynı durum manto hücreli lenfoma ve periferik T hücreli lenfoma için de geçerlidir. Foliküler lenfoma tanılı 175 hastada yapılan bir çalışmada, ilk relapsta OHKHN nakli eşliğinde YDKT'nin uygun tedavi seçeneği olabileceği bildirilmektedir (4).

Yine agresif lenfomalardan oluşan 330 kişilik bir seride ilk yanıtın ardından gelişen nükste OHKHN eşliğinde YDKT yapılmasını desteklemektedir (5).

4.5.1. Hazırlık Rejimleri

Allojeneik ve otolog kök hücre nakillerinde hazırlık rejimlerinin verilme hedefleri birbirinden farklıdır. OHKHN’de hedef en fazla sayıda kanser hücrelerini yok etmektir. Hazırlık rejimi için kullanılan tedaviler (ilaç ve/veya radyoterapi) hastanın mevcut hastalığına göre değişim göstermektedir. Bu amaçla kullanılan ilaçların tümör hücrelerini yok etme becerisinin iyi olması aynı zamanda da ciddi hematopoiyetik yan etkiler ortaya çıkarmaması gerekmektedir. Hazırlık rejimleri hepatik venooklüzif hastalık, interstisyel pnömoni, mukozit ve sistit gibi nakil spesifik yan etkileri asgariye indirmek amacıyla yıllar içerisinde değişime uğramıştır.

Allojeneik nakillerde ise otolog nakilden farklı olarak hazırlık rejimlerinin tümör hücrelerini yok edici etkisinin yanında greft rejeksiyonunun korunması amacıyla immunsupresif etkilerinin de olması gerekmektedir (101).

4.5.2. Kök Hücre İnfüzyonu

İnfüzyonun sağlıklı yapılabilmesinin yanında birçok farklı tedavi uygulanmasından ötürü hastalara nakil işleminden önce tünelli çoklu lümenli santral venöz katater takılır, engrafman ve nakil komplikasyonlarının gerilemesinin ardından bu katater çıkartılır. Dondurup saklanan ürünler, genellikle yatak başında ya da laboratuvar ortamında çözülerek hastaya verilmektedir. Çözme işlemi genellikle 37°C lik su banyolarında yapılır ve hızlıca hastaya infüze edilir. Ürün saklama poşetiyle 37°C’lik su banyosuna konulduktan sonra tüm buz giderilene kadar işlemi hızlandırmak için yavaşça hareket ettirilir. Tüm buz eridikten sonra ürün mikroagregat filtresinden geçirilir. İnfüzyona son ya da ara verilmesini gerektiren herhangi bir durum ortaya çıkabileceğinden ilk ürün infüze edilmeden ikinci ürün poşeti eritilmez. İnfüzyon sırasında en sık görülen yan etkiler öksürük, boğazda gıcık hissi, bulantı ve kusmadır. Kardiyak ve solunumsal sistemi etkileyen yan etkiler ise oldukça azdır. Kardiyak yan etkiler genellikle yüksek miktarda DMSO verilmek zorunda kalınan yüksek hacimli ürünler verildiği zaman ortaya çıkmaktadır (87).

4.5.3. Destek tedavi

HKHN sırasında hazırlık rejimi uygulamasının ardından geçici hematopoietik yetersizlik sırasında kompensasyon amacıyla verilen tedavilere, destek tedavi denmektedir. Ciddi hemoraji riski ve anemi komplikasyonlarını önlemek için hastaya trombosit ve eritrosit süspansiyonlarının verilmesi gerekmektedir. Genellikle klinik bulgular da göz önünde bulundurularak ve tecrübeye dayalı olarak trombosit süspansiyonu desteği trombosit sayısı 10.000'nin altına düştüğünde, eritrosit süspansiyonu desteği ise hemoglobin değeri de 7-8 g/dl'nin altına düştüğünde transfüzyon yapılmaktadır. Nötropeni ve ciddi enfeksiyonlar nedeniyle hastalara profilaktik ya da tedavi edici dozlarda antimikrobiyal tedaviler verilmektedir. Uzun yıllarda destek tedavi açısından edinilen tecrübeler sonucu hastalarda sağ kalım faydası ortaya çıkmıştır (101).

4.5.4. Engrafman

Başarılı bir HKHN'nin gerçek göstergesi engrafman ve hematopoietik düzelmedir. Engrafman, nakil sonrasında her hücre tipi için geçen düzelme zamanıdır (Tablo 10).

Tablo 10: Engrafman terminolojisi.

Nötrofil Engrafmanı	Nötrofil sayısının $5 \times 10^9/L$ 'nin üzerinde seyrettiği 3 günün ilk günü
Trombosit Engrafmanı	Transfüzyon yapılmadan (son transfüzyondan 7 gün sonra) trombosit değerinin $20 \times 10^9/L$ 'nin üzerine çıktığı ilk gün

Örneğin eğer bir hastada nötrofil sayısı üç gün boyunca $0,5 \times 10^6/ml$ 'den büyük olursa ilk gün nötrofil engrafmanın olduğu gün olarak kabul edilmektedir. Verilen $CD34^+$ hücre miktarı ile kısa dönemli engrafman arasında ilişki olduğu gösterilmiştir, ancak uzun dönemli hematopoietik düzelme için en önemli belirtecin nötrofil engrafmanına kadar geçen zaman olduğu gösterilmiştir (87).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi ile afiliye çalışan Şişli Florence Nighingale Hastanesi Hematopoetik Kök hücre Nakli Ünitesi'nde gerçekleştirildi. Ünite, 8 pozitif basınçlı izolasyon odasına sahip olup T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından Temmuz 2010 tarihinde ruhsatlandırılmıştır.

5.1. HASTALAR

Ağustos 2010 ile Mayıs 2013 tarihleri arasında, lenfoma ve MM tanısı olan, merkezimize OHKHN yapılmak üzere yönlendirilen ya da hastanemizde aynı tanılarla tedavisi devam etmekteyken HKHN konseyinde OHKHN endikasyonu konulan 18 yaşından büyük tüm olgular ardışık olarak başarılı kök hücre toplama ve nakil gerçekleştirme çabası ("intent to apheresis & transplant") ile çalışma grubuna dahil edildi. Lenfoma ve MM dışı tanılara sahip olan, dış merkezde HKH toplama işlemi gerçekleştirilip hastanemizde OHKHN yapılan ve 18 yaşından küçük olan hastalar çalışmaya alınmadı. Aferez işlemi yapıldıktan sonra hücreleri dondurulup saklanarak işlemi ileride yapılacak olgular, aferez kinetiği çalışmalarına dahil edildi, fakat engrafman kinetiği analizlerine alınmadı. Çalışmamıza toplam 167 hasta alınarak geriye dönük dosyaları incelendi. Hastaların 31'i HL, 55'i HDL ve 81'i ise MM tanılarına sahipti. Hastaların 57'si kadın, 110'u erkekti. Hastalar 18-72 yaşları arasında olup, yaş ortalaması 52±13 yıl idi.

5.2. GENEL AKIŞ

Hastaların HKHN polikliniğinde tıbbi öyküleri alındı, ayrıntılı fizik muayeneleri yapıldı, varsa yönlendirildikleri merkezden getirilen önceki tetkikleri değerlendirilerek son hastalık durumları belirlendi. Hastalık özeti çıkarılan hastalar, HKHN konseyinde endikasyon, işleme uygunluk, riskler ve protokollere uygunluk açısından değerlendirildi. OHKHN endikasyonu konulan hastalardan nakil öncesi hazırlık tetkikleri, gerekli ise diğer bölüm konsültasyonları istendi. Yine polikliniğimizde mobilizasyon rejimleri belirlenen

hastaların aferez işlemi hazırlıklarına başlandı ve takvimleri oluşturuldu. Hastaların hepsi Kan Merkezi bünyesinde bulunan Aferez Ünitesi'nin sorumlusu tarafından değerlendirildi, işlem için onamları alındı, damar yolu uygunluğu tespit edildi. İşlem için her iki antekubital bölgede uygun periferik venöz erişim için damarı bulunmayan olgulara santral venöz kateter takılması önerildi. Bu değerlendirme sonrası oluşturulan takvime uygun olarak, hastaların kök hücre toplanması için yatırılacağı gün tam kan sayımı ve pCD34⁺ hücre düzeyi ayaktan değerlendirildi. Aferez işlemi için karar alınan hastaların periferik venleri eğer uygunsa ek girişim yapılmadı, periferik venleri uygun olmayan hastalara santral venöz kateter takıldı. Aferez, devamlı akım aferez cihazları kullanılarak yapıldı. Aferez işlemi sonlandıktan sonra üründeki toplam CD34⁺ hücre miktarı değerlendirildi. Elde edilen ürünler dondurulup saklandı.

Aferez işlemini takiben geçici olarak takılmış olan femoral santral venöz kateterler çıkarıldı. Yarı kalıcı subklavyen ven cilt tünelli santral venöz kateterler saklandı ve OHKHN ile YDKT içinde kullandıktan sonra çıkarıldı. Aferez ve dondurup saklama işleminin tamamlanmasının ardından hastaların hazırlık rejimleri ve takvimlerinin belirlenmesi için ayrılan yaklaşık 2 haftalık bir süre sonunda nakil öncesi hazırlık tetkikleri tamamlanan hastalar son poliklinik kontrolünden sonra HKHN Ünitesi'ne yatırıldı. Geçici kataterleri çıkartılan hastalara süreç boyunca verilecek tüm destek tedavileri ve infüzyonun sağlıklı yapılabilmesi amacıyla hastaların genel durumu, boyun özellikleri ve geçmiş katater deneyimleri göz önünde bulundurularak santral venöz katater takıldı.

Her hasta için ayrı düzenlenen hazırlık rejimi verildikten sonra infüzyon günü terapötik aferez laboratuvarında dondurulup saklanmış ürünlerde çözme işleminin ardından tekrar CD34⁺ hücre sayımı yapıldı. Çözme işlemi tamamlanan ürünler, infüzyon kurallarına uyularak hastalara verildi. Destek tedaviler her hasta için kişiselleştirildi. Nötrofil ve trombosit engrafmanları gerçekleşen hastalar genel durumları ve bulguları normal seyre yaklaştığında ayaktan takip edilmek üzere taburcu edildi.

Hastaların nakil endikasyonu konmadan önceki poliklinik dosyaları, HKHN konsey karar defteri bilgileri, konsey sonrası değerlendirilme poliklinik dosyaları, mobilizasyon ve aferez işlem dosyaları ve yatış dosyaları retrospektif olarak tarandı. Bu taramalar sonucunda her hasta için demografik veriler (isim, soyisim, yaş, cinsiyet, boy, kilo), hastalık verileri (hastalık adı, evresi, almış olduğu kemoterapiler ve seri bilgileri, radyoterapi alıp almadıkları), mobilizasyon verileri (kullanılan mobilizasyon rejimleri -

sadece G-CSF, G-CSF ve kemoterapi, G-CSF ve pleriksafor, kullanılan toplam G-CSF dozu, kullanılan G-CSF gün sayısı), aferez verileri (katater tipi, kullanılan cihaz tipi, pCD34⁺ hücre sayısı, aferez tarihi, toplam kan hacmi, işlenen kan hacmi, ACD miktarı, işlem süresi, aferez öncesi lökosit sayısı, aferez öncesi MNC sayısı, aferez sonrası CD34⁺ hücre sayısı, aferez sonrası mononükleer hücre sayısı, ürün hacmi, toplam DMSO miktarı) ve nakil verileri (hazırlık rejimi, infüzyon tarihi, infüzyon gün sayısı, infüze edilen CD34⁺ hücre sayısı, torba sayısı, infüze edilen hacim, nötrofil engrafman tarihi ve trombosit engrafman tarihi) kaydedildi.

5.3. İŞLEMLER

5.3.1. pCD34⁺ Hücre Miktarının Belirlenmesi

İmmün tiplendirme için periferik kan örneği alınarak tam kan sayımı yapıldı (Sysmex XT-2000i Automatic Haematology Analyzer). Her olguda lökosit sayımı; thoma sayım kamarasıyla da teyit edildi.

pCD34⁺ hücre analizi için CD34 PE ve CD45 FITC monoklonal antikorları ile tam kan boyaması yapıldı (100 µl tam kan ve 10'ar µl monoklonal antikor). Hazırlanan karışım oda sıcaklığında ve karanlıkta 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüpe 2 ml lizis solüsyonu eklendi ve vorteks yardımıyla karıştırıldı. 15 dakika oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi. Hücreler akım sitometri sıvısı ile (1 ml) iki defa yıkandı ve santrifüj edildi. Elde edilen hücre süspansiyonu akım sitometri cihazında (Beckman Coulter, Epics XL-, System 3) analiz edildi (toplam 100.000 hücre sayıldı).

Analizlerde ISHAGE protokolü kullanıldı (102):

- CD45 ile zayıf ve kuvvetli boyanma gösteren (pozitif) (CD45 / SS) hücrelerin tamamı kapı içine alındı (A kapısı). Bu şekilde tüm eritrositler, trombositler ve debri dışlanarak lökosit kapısı tanımlaması yapılmış oldu.
- CD34'e SS grafiğinde A kapısı tanıtıldı (CD34 /SS). SS düşük ve CD34'ü pozitif hücreler kapılandı (B kapısı).
- Ardından A ve B kapısındaki hücreler CD45'e SS grafiğine tanıtıldı. Bu grafikte SS düşük ve CD45'i zayıf ve orta floresan veren hücreler kapılandı (C kapısı).

- Hücrelerin büyüklük ve granül yapısı açısından analiz edildiği grafik olan FS/SS grafiğinde A+B+C kapısında SS açısından düşük ve FS açısından ise homojen dağılım gösteren hücreler kapılandı (F kapısı).
- Tüm lökositlerin kapılandığı A grafiğinde, CD45 için kuvvetli boyanan lenfositler kapılandı (D kapısı). D kapısı E grafiğine tanıtıldı ve grafikte homojen dağılım gösteren lenfositler kapılandı.
- Herhangi bir kapı tanıtılmadan (ungated) tüm hücrelerin içerisinde CD34'ü pozitif hücrelerin, zayıf CD45 floresan sınırına bakıldı (CD45/CD34).
- Analizler; 7AAD'si pozitif olan (ölü) hücreler değerlendirme dışı bırakılarak, 7AAD'si negatif (canlı) hücreler üzerinden yapıldı.

5.3.2. Aferez İşlemleri

Aferez işlemleri için Caridian BCT Inc. Spectra Optia Apheresis System ve Fresenius Comtec olmak üzere iki farklı devamlı akım aferez cihazları kullanılarak yatakbaşı yapıldı. Spectra Optia Collection Set ve Fresenius P1Y-P1YA setleri kullanıldı.

5.3.3. Toplanan CD34⁺ Hücre Miktarının Belirlenmesi

Aferez işlemi sonlandıktan sonra üründeki toplam CD34⁺ hücre miktarı 5.3.1. alt başlığında tanımlanan yöntemle değerlendirildi. Her hastadan aferez ile elde edilen hacmin hesaplanması için ürünün tamamı steril kabin içinde enjektöre çekildi ve ürün hacmi kaydedildi. Akım sitometri cihazının mikrolitre başına saptadığı CD34⁺ hücre sayısı ürün hacmi ile çarpılarak toplam CD34⁺ hücre sayısı elde edildi. Aşağıdaki formül yardımıyla her hasta için kilogram başına düşen CD34⁺ hücre sayısı belirlendi.

$$CD34^+ \text{ hücre} = \frac{CD34^+ \text{ sayısı} / \text{mikrolitre} \times \text{ürün miktarı (mikrolitre)}}{\text{Hastanın vücut ağırlığı (kg)} \times 100}$$

5.3.4. Dondurup Saklama

Merkezimiz istisnalar dışında içeriği 0,5x10⁶/kg CD34⁺ hücreye sahip ürünleri dondurup saklanmaktadır. Ürünlere koruyucu madde olarak %6 HES ve %7,5 DMSO ürüne eklendi. Bu ürünler KRYO 10 Series cihazında CryoStore CS750NS, Oni-Gen

torbaları içerisinde kademeli olarak -196°C 'ye dondurularak, -196°C 'de derecede sıvı azot tanklarında kendilerine özel hazırlanmış kasetler içinde saklandı.

5.3.5. Çözme ve İnfüzyon Öncesi CD34⁺ Hücre Miktarının Belirlenmesi

Dondurulup saklanan ürünler Aferez Ünitesi'nde su banyosu yöntemiyle NÜVE Su Banyosu'nda çözüldü. Çözme işleminin ardından 5.3.3. alt başlığında tanımlanan şekilde tekrar sayım yapıldı.

5.3.6. Yüksek Doz Kemoterapi

MM tanılı hastaların hepsinde hazırlık rejimi olarak yüksek doz melfalan kullanıldı. Bu protokole göre infüzyon günü 0. gün olarak tanımlanıp takvime göre -2. günde $200\text{mg}/\text{m}^2/\text{gün}$ dozunda (hasta özelliklerine göre ek doz ayarlaması yapılarak) intravenöz infüzyon ile iki saatte sürede uygulandı.

Lenfoma tanılı hastalarda hazırlık rejimi olarak bir hasta dışında BEAM tedavisi uygulandı. Bu protokole göre infüzyon günü 0. gün olarak tanımlanıp takvime göre -7. günde karmustin $300\text{mg}/\text{m}^2$ (iki saatte); -6., -5., -4. ve -3. günlerde etoposid $200\text{mg}/\text{m}^2$ (iki saatte); -6., -5., -4. ve -3. günlerde sitarabin (iki saatte); -2. günde ise melfalan $140\text{ mg}/\text{m}^2$ (bir saatte) intravenöz infüzyon ile uygulandı.

HDL tanılı bir hastada ise hazırlık rejimi olarak ICE tedavisi uygulandı. Bu protokole göre infüzyon günü 0. gün olarak tanımlanıp takvime göre -6., -5., -4. ve -3. günlerde ifosfamid $2,5\text{g}/\text{m}^2$ (24 saatte); -6., -5., -4. ve -3. günlerde mesna $2,5\text{g}/\text{m}^2$ (24 saatte); -6., -5., -4. ve -3. günlerde etoposid $300\text{mg}/\text{m}^2$ (x2, iki saatte); -6., -5. ve -4. Günlerde ise karboplatin $500\text{ mg}/\text{m}^2$ (iki saatte) intravenöz infüzyon uygulandı.

5.3.7. Hematopoietik Kök Hücre Nakli

Dondurulup saklanmış olan ürünler çözme işleminin ardından kullanılan hazırlık rejimi protokolüne uygun olan tarihte yani 0. günde infüzyon kurallarına uygun olarak santral venöz kataterden verildi. Hastaların nakli izleyen süreçte gelişen pansitopeni dönemi; destek tedaviler, nötropenik ateş gelişmesi durumunda enfeksiyon odağı ve odakla ilişkili kültür üremeleri göz önünde bulundurularak kullanılan antibiyotikler ve gerekli durumlarda kan ürün replasmanları yapılarak tamamlandı.

5.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Çalışmada ile ilgili analizler (Statistical Package for Social Sciences) SPSS 21.0 programı ile yapıldı. Grafikler için SPSS 21.0 ve GraphPad Prism 5 programı kullanıldı. Hasta grupları arasındaki varyans analizi ANOVA ile yapıldı ve normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi uygulandı. Değişkenler arasındaki etkiyi belirlemek için Spearman korelasyon analizi yapıldı. Hastaların demografik verisi standart sapma ile birlikte ortalama değer, aralık ile birlikte ortanca değer olarak gösterildi. Şekillerde ortanca değerler kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık, p değerinin 0,05'den küçük olması olarak tanımlandı.

6. BULGULAR

Çalışmamıza toplam 167 hasta alınarak dosyaları incelendi. Hastaların 31'i HL, 55'i HDL ve 81'i ise MM tanılarına sahipti. Hastaların 57'si (% 34,2) kadın, 110'u (% 65,8) erkekti. HL tanılı hastaların 20 (%64,5)'si erkek, 11 (%35,5)'i kadın; HDL tanılı hastaların 36 (%65,5)'sı erkek, 19 (%34,5)'u kadın, MM tanılı hastaların ise 54 (%66,7)'ü erkek, 27 (%33,3)'si kadındı. Hastalar 18-72 yaşları arasında olup, yaş ortalaması 52±13 yıl idi. Hasta gruplarına bakıldığında yaş ortalaması HL tanılı hastalarda 37±12,7 yıl, HDL tanılı hastalarda 47,4±13,9 yıl ve MM tanılı hastalarda 56,6±7,9 yıl idi. Hastalar istatistiksel çalışmalar sırasında 18-29, 30-39, 40- 49, 50-59, 60-69 ile 70 ve üstü olarak onluk yaş aralıklarına ayrıldı.

Tablo 11: Hastalık tiplerine göre yaş özellikleri.

	HL (N=31)	HDL (N=55)	MM (N=81)
Erkek (%)	20 (%64,5)	36 (%65,5)	54 (%66,7)
Kadın (%)	11 (%35,5)	19 (%34,5)	27 (%33,3)
Yaş Ortalaması (±SS)	37±12,7	47,4±13,9	56,6±7,9

Hastalar cinsiyet, boy ve kilo özelliklerine göre ölçümlendirildi. Bu ölçümler için kullanılan formüller Tablo 12'de gösterilmektedir. Hastalar beden kitle indeksine (BKİ) göre düşük kilolu (20 kg/m²'nin altında), normal kilolu (20-25,9 kg/m²), kilolu (26-29,9 kg/m²) ve obez (30 kg/m²'nin üstünde) olarak sınıflandırıldı. Buna göre hasta özellikleri Tablo 13'de sunulmaktadır.

Tablo 12: Vücut özellikleri ölçümleri.

	Formül (birim)
BKİ (Beden Kitle İndeksi)	Kilo / [boy, m] ² (kg/m ²)
İVA (İdeal Vücut Ağırlığı)	Kadın; 50+[0,91 x (boy, cm-152)] (kg) Erkek; 45+[0,91 x (boy, cm-152)] (kg)
AVA (Aktüel Vücut Ağırlığı)	AVA = İVA+0,4 (Vücut ağırlığı-İVA) (kg)
AİVA (Ayarlanmış İdeal Vücut Ağırlığı)	İVA + [0,25x(AVA-İVA)] (kg)

Tablo 13: Hastaların BKİ'ye göre vücut ağırlığı değerlendirmeleri.

	HL (N=31)	NHL (N=55)	MM (N=81)
Düşük kilolu (%)	2 (%6,5)	5 (%9,1)	2 (%2,5)
Normal kilolu (%)	15 (%48,4)	19 (%34,5)	22 (%27,2)
Kilolu (%)	6 (%19,4)	16 (%29,1)	27 (%33,3)
Obez (%)	8 (%25,8)	15 (%27,3)	30 (%37)

Hastaların İVA değerleri erkeklerde 46-84 kg arasında değişmekte olup ortalama 67,6±6,9 kg olarak, kadınlarda ise 36,1-62,3 kg arasında ortalama 50,6±5,6 kg arasında değiştiği gözlemlendi. Benzer şekilde AVA değerleri erkeklerde 53,7-96,2 kg arasında değişmekte olup ortalama 73,4 ± 8,5 kg olarak, kadınlarda ise 45,4-92,2 kg arasında ortalama 79,9±7,9 kg olarak saptandı. AİVA değerleri ise erkeklerde 48,1-85,6 kg arasında değişmekte olup ortalama 69±6,9 kg olarak, kadınlarda ise 41,1-64 kg arasında ortalama 52,4±5,4 kg olarak hesaplandı. Hastalık tipine göre İVA, AVA ve AİVA dağılımları Tablo 14'te gösterilmektedir.

Tablo 14: Hastalık tiplerine göre İVA, AVA ve AİVA dağılımları.

	HL	HDL	MM	
İVA	N	31	55	81
	Ortalama ± SS	62,85±10,7	62,97±11,0	60,58±9,7
	Ortanca (aralık)	64,2 (43,3-80,4)	65 (36,1-84,0)	61,4 (39,7-79,5)
AVA	Ortalama ± SS	68,23±12,7	68,71±11,6	67,65±10,1
	Ortanca (aralık)	70,8 (45,4-89,1)	68,7 (48,0-96,2)	68,1 (48,2-92,2)
AİVA	Ortalama ± SS	64,19±10,9	64,40±10,8	62,35±9,5
	Ortanca (aralık)	67,12 (44,9-81,2)	65,22 (41,1-85,6)	63,75 (42,1-81,4)

Çalışmaya dahil olan 31 HL olgusunun, 14 (%45,2)'ü nodüler sklerozan, 7 (%22,6)'si klasik tipte, 6 (%19,4)'sı miks sellüler, 2 (%6,4)'si lenfositten zengin grupta yer alırken, 2 (%6,4)'sinin lenfosit predominant olduğu belirlendi (Tablo 15). HL hastalarının evrelerine bakıldığında, Evre 2 hastalık 7 (%22,6), Evre 3 hastalık 17 (%54,8) ve Evre 4 hastalık 7 (%22,6) hastada saptandı. HDL olgularının hastalık evrelerine bakıldığında ise Evre 1 hastalık 3 (%5,4), Evre 2 hastalık 4 (%7,2), Evre 3 hastalık 23(%41,7) ve Evre 4 hastalık 25 (%45,7) hastada gözlemlendi.

HDL olgularında en sık DBBHL, ikinci en sık manto hücreli lenfoma görülürken en az sıklığı ise beş farklı HDL tipi paylaşmaktadır. HDL olgularının hastalık tipi dağılımı Tablo 16'de özetlenmektedir.

Tablo 15: HL olgularının hastalık tipi dağılımları.

HL tipi	N=31
Nodüler Sklerozan	14 (%45,2)
Klasik Tip	7 (%22,6)
Miks Sellüler	6 (%19,4)
Lenfositten Zengin	2 (%6,4)
Lenfosit Predominant	2 (%6,4)

Tablo 16: HDL olgularının hastalık tipi dağılımları.

HDL Tip	N=55
DBBHL	33 (%60)
Manto Hücreli	7 (%12,8)
Foliküler	6 (%10,9)
Periferik T Hücreli	4 (%7,3)
Anaplastik T Hücreli	1 (%1,8)
Anjiyoimmünoblastik T Hücreli	1 (%1,8)
Enteropati ilişkili	1 (%1,8)
Plazmoblastik	1 (%1,8)
Lenfoblastik T Hücreli	1 (%1,8)

MM olgularında en sık İg G Kappa, ikinci en sık İg G Lambda tipi gözlenirken en az sıklıkla İg M Lambda tipi hastalık saptandı. MM olguları içinde İg M kappa alt tipi bulunmamaktadır. MM olgularının hastalık tipi dağılımı Tablo 17’de gösterilmektedir.

Tablo 17: MM olgularının hastalık tipi dağılımları.

MM tipi	N=81
İg G Kappa	33 (%40,8)
İg G Lambda	15 (%18,6)
İg A Kappa	10 (%12,3)
Kappa Hafif Zincir	7 (%8,6)
İg A Lambda	6 (%7,4)
Lambda Hafif Zincir	5 (%6,2)
Multiple Plazmositom	4 (%4,9)
İg M Lambda	1 (%1,2)

Durie-Salmon evreleme sistemine göre Evre 1 hastalık 2 (%2,5), Evre 2 hastalık 6 (%7,4), Evre 3 hastalık 69 (%85,1) hastada saptanırken multiple plazmositom tanılı 4 hasta evrelendirilemedi. Evre 3A hastalığa sahip hasta sayısı 57 (tüm grup içerisinde %70,3)

iken Evre 3B hastalığa sahip hasta sayısı ise 12 (tüm grup içerisinde %14,8) idi. Hastaların ISS'e göre evrelendirilmesi, yönlendiren merkezden gerekli tanı anı verileri tam sağlanamamış olduğundan 34 hastada tamamlanamadı. Hastalar, tedavi özellikleri açısından radyoterapi alıp almadıklarına göre ve kemoterapi seri sayılarına göre değerlendirildi (Tablo 18 ve Tablo 19).

Tablo 18: Hastalık tiplerine göre radyoterapi tedavi dağılımları.

	HL (N=31)	NHL (N=55)	MM (N=81)
Radyoterapi Almayan (%)	21 (%67,7)	37 (%67,3)	46 (%56,8)
Radyoterapi Alan (%)	10 (%32,3)	18 (%32,7)	35 (%43,2)

Tüm hasta grupları göz önüne alındığında hastaların 48 (%29,4)'i tek seri kemoterapi, 87 (%53,3)'si iki seri kemoterapi, 30 (%18,4)'u üç ve üzeri seri kemoterapi almıştı. İki hastanın yönlendiren merkezden kemoterapi bilgileri net elde edilemedi.

Tablo 19: Hastalık tiplerine göre kemoterapi seri sayısı dağılımları.

Kemoterapi Seri Sayısı	HL (N=31)	HDL (N=54)	MM (N=80)
1	3 (%9,6)	14 (%25,9)	31 (%38,8)
2	23 (%74,2)	28 (%51,8)	36 (%45)
3 ve üzeri	5 (%16,2)	12 (%22,3)	13 (%16,2)

OHKHN eşliğinde yüksek doz tedavi kararı öncesinde HL olgularının 4 (%12,9)'ü, HDL olgularının 9 (%16,4)'u kemorefrakter iken, HL olgularının 27 (%87,1)'si, HDL olgularının ise 46 (%83,6)'sı kemosensitif. MM olgularının ise 17 (%20,9)'si TY, 22 (%27,2)'si KY, 40 (%49,5)'i ÇİKY ve 2 (%2,4)'si progresif hastalık halindeyken OHKHN eşliğinde YDKT kararı verildi.

Hastaların 121 (%72)'inde sadece G-CSF ile mobilizasyon sağlanırken 6 (%3,6)'sında kemoterapi sonrası mobilizasyon yapıldı, 5 (%6)'inde ise kemoterapi sonrası mobilizasyon başarısızlıkla sonuçlanıp tekrar G-CSF ile başarılı mobilizasyon sağlandı. İki MM biri HDL hastası olmak üzere, üç hastada mevcut rejimlerle mobilizasyon sağlanamadığı için kemik iliği toplama işlemi yapıldı. Bir hastada birinci seri mobilizasyon

rejimi olarak G-CSF ve siklofosamid kullanılmış ancak yeterli pCD34⁺ hücre elde edilemediği için aferez işlemi yapılmamıştır. Hastalara mobilizasyon için uygulanan tedaviler hastalık tiplerine göre Tablo 20’de gösterilmektedir.

Tablo 20: Hastalık tiplerine göre mobilizasyon rejimleri.

1. seri MR*	2. seri MR*	3. seri MR*	HL	HDL	MM
G			20 (%64,5)	26 (%47,3)	75 (%92,6)
G	Cy+G		3 (%9,7)	9 (%16,3)	1 (%1,2)
G	Cy+G	P+G	1 (%3,2)	6 (%10,9)	2 (%2,5)
G	P+G		3 (%9,7)	2 (%3,6)	3 (%3,7)
KT+G			3 (%9,7)	3 (%5,5)	0
KT+G	G		0	5 (%9,1)	0
Cy+G	P+G		1 (%3,2)	3 (%5,5)	0
Cy+G (**)			0	1 (%1,8)	0

Açıklama:

G: G-CSF, Cy: Siklofosamid, P: Pleriksafor, KT: Kemoterapi

* Mobilizasyon Rejimi

** Cy ile mobilizasyon denenip, aferez yapılmayan

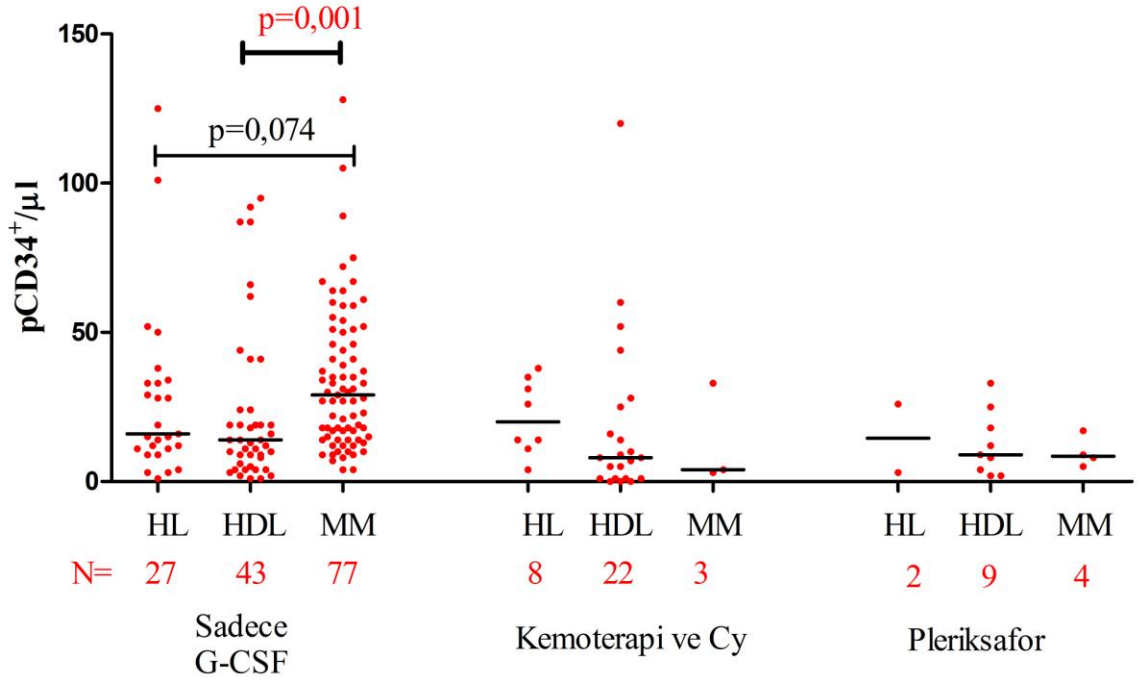
Hastaların tedavilerinde radyoterapi alıp almamalarına göre mobilizasyon rejimleri değerlendirildiğinde, toplanan CD34⁺ hücre sayısına göre, bir seri MR alanlarda 2’nin üzerinde CD34⁺ hücre toplanan 125 hasta (%76,9) olduğu belirlendi. Bunlardan %55,2’sine ise radyoterapi uygulanırken %41,6’sında radyoterapi uygulanmamıştı. Hastalardan elde edilen CD34⁺ hücre sayısının MR’ye ve kemoterapi almalarına göre dağılımları Tablo 21’de verilmektedir.

Tablo 21: MR seri sayısına göre radyoterapi tedavi dağılımı.*

MR* Seri Sayısı	Toplanan CD34+ hücre sayısı	Radyoterapi (-) (N)	Radyoterapi (+) (N)
1. Seri (N=125)	2x10 ⁶ /kg'den küçük (%)	2 (%2,81)	2 (%37)
	2-5x10 ⁶ /kg (%)	40 (%56,34)	30 (%55,6)
	5x10 ⁶ /kg'den büyük (%)	29 (%40,8)	22 (%40,7)
2. Seri (N=27)	2x10 ⁶ /kg'den küçük	1 (%4,55)	1 (%20)
	2-5x10 ⁶ /kg	18 (%81,8)	3 (%60)
	5x10 ⁶ /kg'den büyük	3 (%13,6)	1 (%20)
3. Seri (N=7)	2x10 ⁶ /kg'den küçük	0	0
	2-5x10 ⁶ /kg	2 (%33,33)	1 (%100)
	5x10 ⁶ /kg'den büyük	4 (%66,7)	0

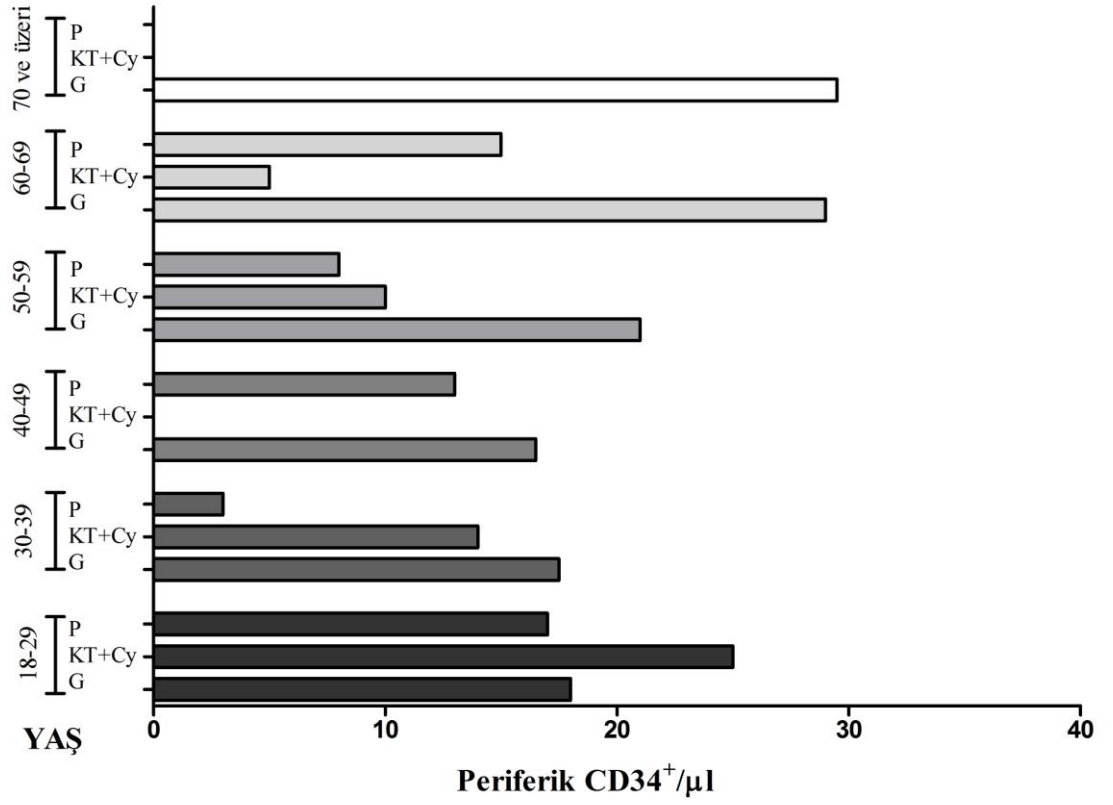
Hastalar kemoterapi seri sayısına göre değerlendirildiğinde, tüm gruplarda hastalar en çok sadece G-CSF ile mobilize edildi (Bir seri tedavi alanlarda %87,5, iki seri tedavi alanlarda %67,8, üç seri ve üzeri kemoterapi alanlarda %60).

Hastaların mobilizasyon için kullandıkları tedaviler sonucunda aferez öncesinde elde edilen pCD34⁺ hücre sayısı 0-225/ μ l arasında değişmekte olup ortanca 18,0/ μ l idi. Hastalık tipleri açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklar belirlendi. MM olgularında sadece G-CSF ile mobilizasyon sonrası değerlendirilen pCD34⁺ hücre sayısı HL ve HDL olgularından istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu saptandı. MM olgularının pCD34⁺ hücre sayısı HDL olgularınınkinden anlamlı olarak yüksek (29 vs 14, p=0,001); HL olgularının ise anlamlılığa yakın oranda yüksek (29 vs 16, p=0,074) olduğu bulundu. Siklofosfamid ya da pleriksafor ile yapılan mobilizasyon sonrası pCD34⁺ hücre sayımlarında ise fark belirlenmedi (Şekil 4).



Şekil 4: pCD34⁺ hücre sayısının hastalık tiplerine göre dağılımları.

Dekatlara göre sınıflanan yaş grupları değerlendirildiğinde pCD34⁺ hücre sayımı açısından istatistiksel anlamlı herhangi bir fark saptanmazken (Şekil 5), BKİ'ne göre değerlendirme yapıldığında kilolu kişilerde pCD34⁺ hücre sayımı normallere (28 vs 17, p=0.014) ve düşük kilolulara göre (28 vs 14, p=0,034) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Obezlerde düşük kilolulara göre anlamlı olarak yüksek (27 vs 14, p=0,046) iken normal kilolular ile karşılaştırıldığında anlamlılığa yakın oranda (27 vs 17, p=0,063) yüksek bulunmuştur. BKİ'lerine göre mobilizasyon rejimleri değerlendirildiğinde, pCD34⁺ hücre sayımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Sadece MM grubunda, sadece G-CSF ile elde edilen pCD34⁺ hücre sayısı, normal kilolu bireylerde kilolu bireylere göre düşük olma eğiliminde olduğu gözlenmiştir (20 vs 33, p=0,069).



Şekil 5: pCD34⁺ hücre sayısının yaşa göre dağılımı.

Hastaların pCD34⁺ sayıları, İVA, AVA ve AİVA'ye göre değerlendirildiğinde, G+KT/Cy uygulanan grupta, AVA ve AİVA'nın pCD34⁺ hücre sayısının 5/µl'in altında saptananlarda, 21-50/µl arasında olan gruptan anlamlı olarak yüksek olduğu bulundu (sırasıyla, p=0,016 ve p=0,043) (Tablo 22).

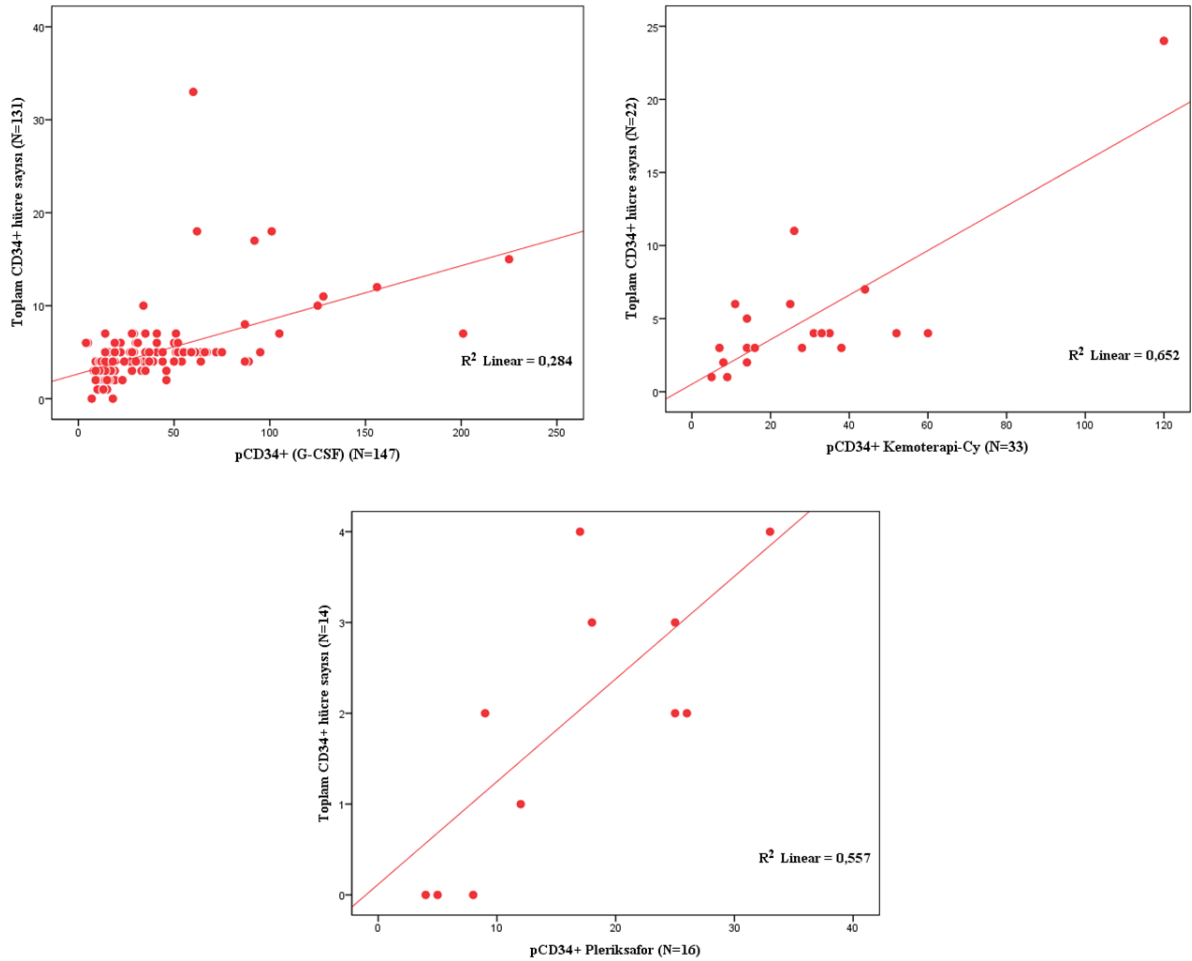
Tablo 22: pCD34⁺ hücre sayısının İVA, AVA ve AİVA'ye dağılımları.

		pCD34 ⁺ /μl						
		5'in altı	5-10	11-20	21-50	50'nin üstü	p	
G	N	15	18	42	42	30		
	İVA	Ortalama ± SS	59,38 ± 11,1	60,2 ± 10,1	63,56 ± 11,5	60,55 ± 9,6	63,16 ± 10,0	
		Ortanca (aralık)	62,3 (40,6-71,4)	62,75 (39,7-78,0)	67,25 (36,1-80,4)	62,3 (48,3-76,8)	63,2 (46,0-84,0)	
	AVA	Ortalama ± SS	63,59 ± 11,1	67,21 ± 10,3	69,88 ± 12,5	67,13 ± 9,9	71,09 ± 10,8	
		Ortanca (aralık)	68,1 (48,0-82,4)*	67,2 (49,4-88)	69,9 (45,4-96,2)	67,75 (48,2-85)	69,9 (49,8-92,2)*	0,071
	AİVA	Ortalama ± SS	60,43 ± 11	61,97 ± 9,8	65,14 ± 11,4	62,20 ± 9,4	65,14 ± 9,7	
		Ortanca (aralık)	63,75 (42,5-74,2)	63,23 (42,1-80,5)	67,77 (41,1-81,4)	64,2 (45,4-78,4)	64,84 (48,1-85,6)	
	G + KT/Cy	N	10	7	5	8	3	
		İVA	Ortalama ± SS	65,77 ± 8,5	57,16 ± 13,3	63,4 ± 8,6	55,88 ± 10,5	61,4 ± 5,4
Ortanca (aralık)			66,4 (48,8-80,4)	54,2 (40,6-76,8)	63,2 (52,4-75)	52,85 (43,3-70,5)	61,4 (56-66,8)	
AVA		Ortalama ± SS	72,05 ± 8,2	63,73 ± 13,3	69,78 ± 10,0	59,82 ± 9,4	65,5 ± 11,0	
		Ortanca (aralık)	70,85 (62,5-90,7)*	61,3 (48,0-82,4)*	69,5 (59,6-81,4)	57,55 (50,9-76,3)*	71,2 (52,8-72,5)	0,088 ve 0,016
AİVA		Ortalama ± SS	67,34 ± 8,2	58,8 ± 13,2	65,0 ± 8,7	56,87 ± 9,9	62,42 ± 6,6	
		Ortanca (aralık)	67,21 (52,9-83,0)*	56,0 (42,5-77,9)	64,8 (54,4-75,8)	53,0 (45,4-72,0)*	63,85 (55,2-68,2)	0,043
G + P		N	4	5	3	4		
		İVA	Ortalama ± SS	64,35 ± 11,3	62,5 ± 5,3	62,63 ± 15,3	52,15 ± 16,3	
	Ortanca (aralık)		61,4 (54,2-80,4)	64,1 (54,2-68,7)	69,6 (45,1-73,2)	51,45 (36,1-69,6)		
	AVA	Ortalama ± SS	67,2 ± 17,8	67,98 ± 6,9	64,1 ± 11,6	60,0 ± 10,1		
		Ortanca (aralık)	65,2 (47,7-90,7)	70,8 (56,1-73,7)	69,9 (50,7-71,7)	60,5 (48,0-70,9)		
	AİVA	Ortalama ± SS	65,1 ± 12,9	63,87 ± 5,5	63,0 ± 14,3	54,1 ± 14,5		
		Ortanca (aralık)	62,35 (52,6-83,0)	65,1 (54,7-69,3)	70,12 (46,5-72,4)	52,71 (41,1-69,9)		

pCD34⁺ hücre sayısı ile hastaların radyoterapi alıp almadıkları arasında istatistiksel anlamlılık bulunmazken sadece G-CSF rejimi sonucu elde edilen pCD34⁺ hücre sayısının alınan kemoterapi seri sayısı arttıkça düştüğü gözlemlendi, ancak istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmadı. Tek, iki ve üç seri kemoterapi alan hastalarda ortalama pCD34⁺ hücre sayısı sırasıyla 25, 23 ve 14 / μ l olarak saptandı.

Hastaların altısında damar yolu bilgisine ulaşılamadı, diğer hastaların %13,7'sinde periferik damar yolu kullanılırken %86,3'ünde santral venöz katater (%57,2 femoral ven, %27,9 subklavyen ven, %0,6 jugular ven ve %0,6 AV fistül) kullanıldı.

Hastaların pCD34⁺ hücre sayıları ile sadece G-CSF, kemoterapi veya pleriksaför ile mobilizasyon sonrası toplanan CD34⁺ hücre sayıları arasında pozitif korelasyon saptandı (sırasıyla; $p < 0,001$, $p = 0,002$ ve $p = 0,001$) (Şekil 6).



Şekil 6: pCD34⁺ hücre sayısı ve toplam CD34⁺ hücre sayısı arasındaki korelasyonlar

Çalışmada yer alan 167 hastanın 4'üne, pCD34⁺ hücre sayımı, işlem için yeterli olmadığından aferez yapılmadı. Kalan 163 hastada mobilizasyon rejimlerinden bağımsız olarak toplam 245 aferez işlemi yapıldı. İşlem mekanikleri açısından değerlendirildiğinde işlem sırasında toplam kan hacmi 2954-11091 ml arasında olmak üzere ortalama 4848 (±1166) ml olarak hesaplandı. İşlenen kan hacmi ise 6000-19910 ml arasında olmak üzere ortalama 11166 ml olduğu bulundu. İşlem sırasında antikoagülan olarak kullanılan ACD, 300 -1817 ml arasında olmak üzere ortalama 964 ml kullanıldı. İşlem süresi 126-398 dk arasında değişirken ortalama 242 dk'da yatak başı devamlı akım lökoferez yapıldı. Aferez işlemi öncesi lökosit sayısı 3,67-65,8x10⁹/L arasında değişirken ortalama 30,46x10⁹/L olduğu gözlemlendi. Aferez sonrası elde edilen toplam CD34⁺ hücre sayısı 0,2-33,9 x 10⁶/kg arasında değişirken ortalama 3,3x10⁹/kg olarak, aferez sonrası mononükleer hücre (MNC) sayımı ise 5,6-94,9x10⁸/kg arasında değişirken ortalama 49x10⁸/kg olarak sayıldı. Ürün miktarına bakıldığında 114-515 ml arasında değişirken ortalama 292 ml olduğu gözlemlendi (Tablo 23).

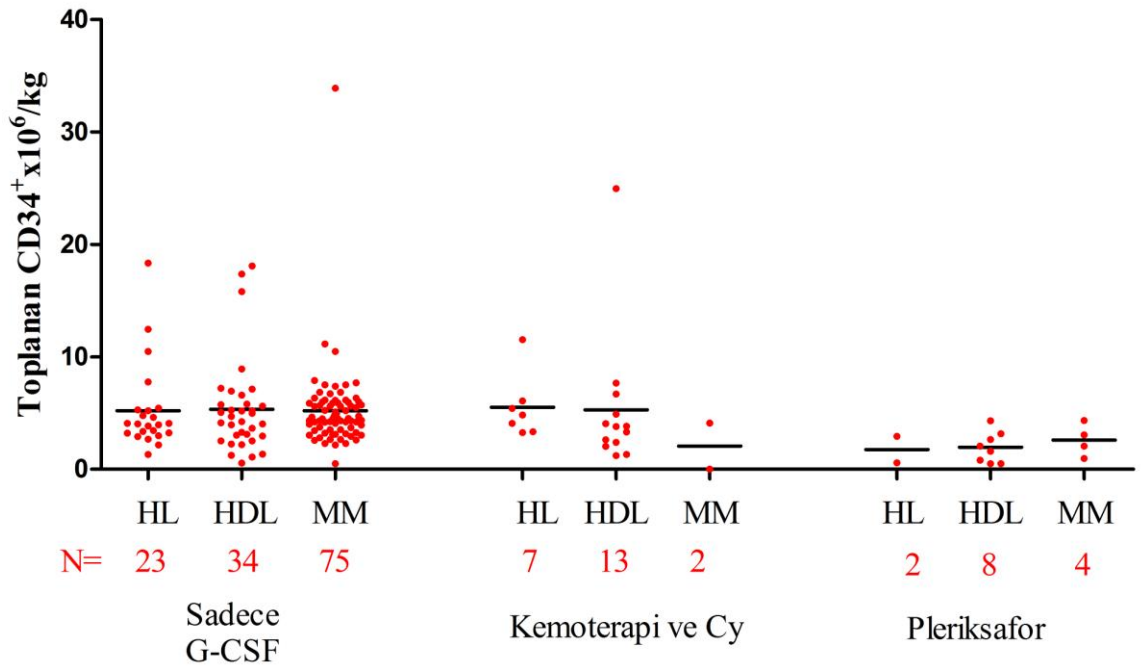
Tablo 23: Aferez işlemi verileri.

	En Düşük	En Yüksek	Ortalama
Toplam Kan Hacmi (ml)	2954	11091	482
İşlenen Kan Hacmi (ml)	6000	19910	11166
ACD Miktarı (ml)	300	1817	964
Aferez Öncesi Lökosit Sayısı (x10⁹/kg)	3670	65800	30465
Aferez Sonrası toplam CD34⁺ Hücre Sayısı (x 10⁶/kg)	0,2	33,9	3,3
Aferez Sonrası MNC Sayımı (x10⁸/kg)	5,6	94,9	49
Ürün Miktarı (ml)	114	515	292

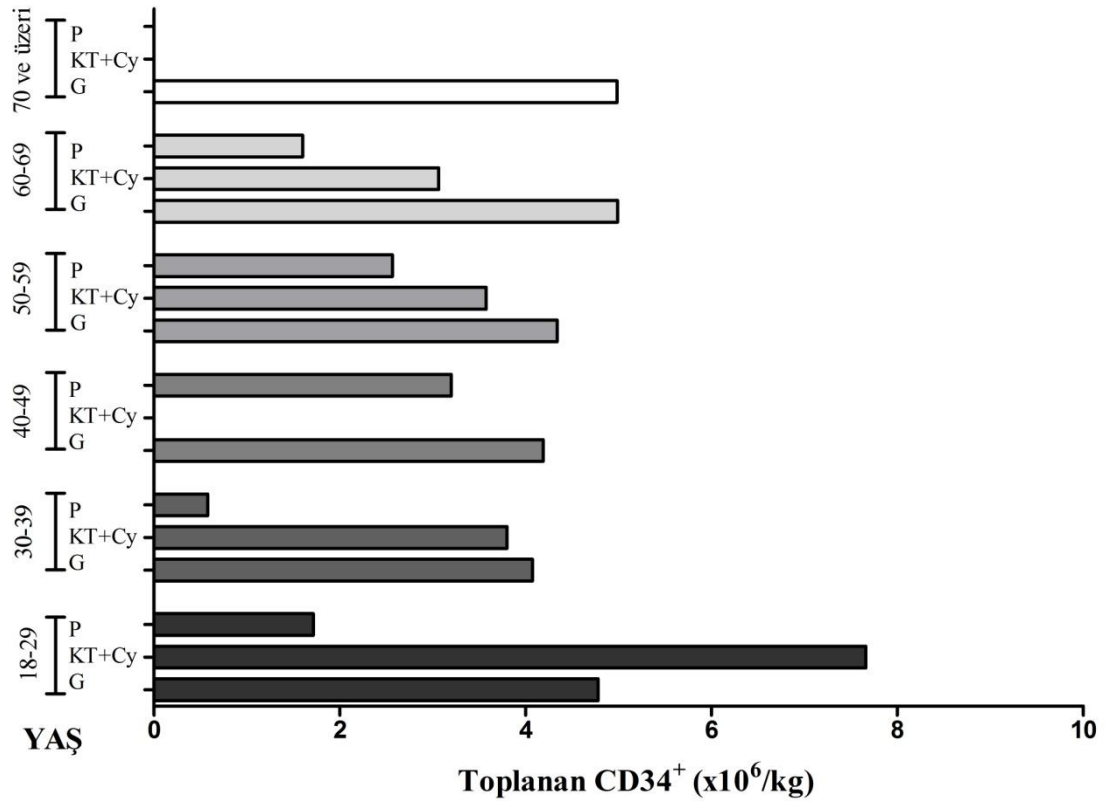
Aferez işlemi verileri yani toplam kan hacmi, işlenen kan hacmi, işlem süresi, aferez öncesi lökosit sayısı ve aferez sonrası CD34⁺ hücre sayımı arasında korelasyon analizi yapıldı. Tüm aferez işlemlerinde toplam kan hacmi, işlenen kan hacmi ve işlem süresi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (tüm aferez işlemleri için p<0,05). Sadece

G-CSF ile yapılan mobilizasyonun 2. aferez gününde CD34⁺ hücre sayımı ile toplam kan hacmi ve işlenen kan hacmi arasında korelasyon belirlendi (sırasıyla; p=0,020, p=0,004). Sadece G-CSF ile yapılan mobilizasyon sonrası 3. aferez gününde hasta sayısı iki, ayrıca pleriksafor ile yapılan mobilizasyon sonrası 3. aferez gününde hasta sayısı bir olduğu için değerlendirilemedi.

Toplanan toplam CD34⁺ hücre sayılarının hastalık tipleri ve yaş grupları dağılımında ortalama ve ortanca değerlerin benzer olduğu dikkat çekti (Şekil 7 ve Şekil 8).



Şekil 7: Toplanan CD34⁺ hücre sayısının hastalık tiplerine göre dağılımları.



Şekil 8: Toplanan CD34⁺ hücre sayısının yaşa göre dağılımları.

Toplanan toplam CD34⁺ hücre miktarlarına göre İVA, AVA ve AİVA dağılımları Tablo 24'de özetlenmiştir.

Tablo 24: Toplam CD34⁺ hücre miktarlarının İVA, AVA ve AİVA'ye göre dağılımları.

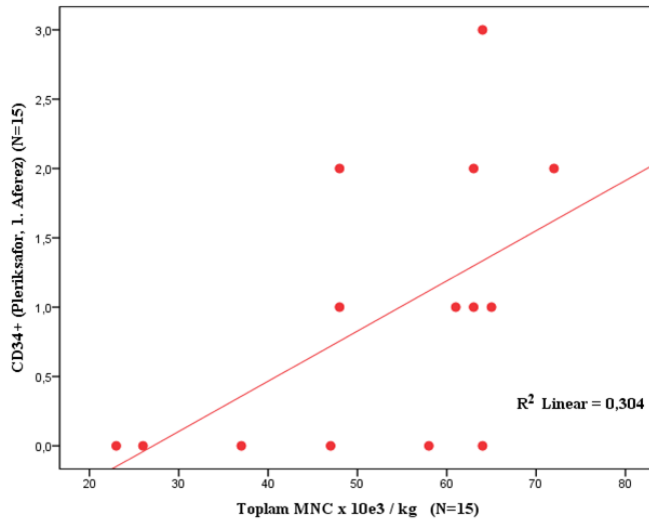
		Toplanan Toplam CD34 ⁺ /kg		
		2'nin altı	2-5	5'in üstü
İVA	N	6	96	61
	Ortalama ± SS	64,5±6,9	61,5±10,5	61,7±10,7
	Ortanca (aralık)	66,4 (52,4-70,5)	62,8 (36,1-84,0)	63,2 (39,7-80,4)
AVA	Ortalama ± SS	66,0±9,3	67,7±11,4	68,7±10,7
	Ortanca (aralık)	68,0 (49,8-76,3)	68,2 (45,4-96,2)	68,5 (48,2-92,2)
AİVA	Ortalama ± SS	64,8±7,5	63,0±10,4	63,4±10,1
	Ortanca (aralık)	67,0 (51,8-72,0)	64,2 (41,1-85,6)	64,8 (42,1-81,4)

Etkin CD34⁺ hücre toplama başarısını elde edebilmek birim (ml) başına elde edilen CD34⁺ hücre sayısını elde edebilmek için, farklı mobilizasyon rejimlerinden sonra her aferez için; *(aferez sonrası toplanan CD34⁺ hücre sayısı x vücut ağırlığı (kg)) / işlenen kan hacmi (ml)* formülü uygulandı. Bu bağlamda her farklı mobilizasyon rejimi için aferez sayısı arttıkça birim başına elde edilen CD34⁺ hücre sayısı ortalama ve ortanca değerlerinin azaldığı saptandı (Tablo 25). Pleriksafor ile yapılan 3. aferezde bir hasta olması nedeniyle tabloda gösterilmedi.

Tablo 25: Her aferezde birim başına toplanan CD34⁺ hücre sayısı dağılımları.

		Ortalama ± SS	Ortanca (aralık)
Her Aferezde Toplanan CD34⁺ x10³/ml	G 1 (N=132)	29,29±27,6	22,69 (0,00-200,58)
	G 2 (N=68)	13,71±8,71	11,09 (1,9-41,68)
	G 3 (N=2)	7,85±0,19	7,85 (7,72-7,98)
	KT/Cy 1 (N=22)	27,56±41,07	19,71 (3,57-199,68)
	KT/Cy 2 (N=15)	16,26±15,92	10,94 (4,45-60,02)
	P 1 (N=15)	9,41±6,82	7,48 (1,20-19,95)
	P 2 (N=9)	5,37 ±4,23	3,02 (1,55-12,77)
	P 3 (N=1)		

Toplam MNC sayısı ile toplanan CD34⁺ hücre sayımı arasında sadece G-CSF ve kemoterapi ile mobilizasyon yapılan hastalarda herhangi bir korelasyon saptanmadı. Ancak pleriksafor ile mobilize edilen hastalarda ilk aferez sırasındaki toplam MNC sayısı ile toplanan CD34⁺ hücre sayısı arasında pozitif korelasyon saptandı (p=0,01) (Şekil 9).



Şekil 9: Pleriksafor sonrası ilk aferezde mononükleer hücre sayısı ile toplanan CD34⁺ hücre sayısı arasındaki korelasyon.

Yapılan toplam 245 aferez işleminin %46,5'inde toplanan CD34⁺ hücre sayısı $2 \times 10^6/\text{kg}$ 'nin altında bulundu. Mobilizasyon rejimi olarak sadece G-CSF kullanan hastalarda tek seansta $2 \times 10^6/\text{kg}$ 'nin altında toplananlar, $2-5 \times 10^6/\text{kg}$ arasında toplananlar ayrıca $5 \times 10^6/\text{kg}$ 'nin üzerinde toplananlar şeklinde bir ayırım yapıldığındaki toplama verileri Tablo 26'de gösterilmektedir. Örneğin HL tanılı hastaların 7 (%30,4)'sinde, HDL tanılı hastaların 15 (%44,1)'inde ve MM tanılı hastaların 17 (%23)'sinde $2 \times 10^6/\text{kg}$ 'nin altında hücre toplandı. Aynı grupta sistemli hastaların yaş, daha önce aldıkları kemoterapi seri sayısı ve radyoterapi alıp almadıklarına göre değerlendirilmiş, gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 26: Hastalık tipine göre sadece G-CSF ile mobilize edilen hastalarda işlem başı toplanan CD34⁺ hücre sayısı.

Hücre Sayısı	HL (N=23)	HDL (N=34)	MM (N=74)
$2 \times 10^6/\text{kg}$'den az	7 (%30,4)	15 (%44,1)	17 (%23)
$2-5 \times 10^6/\text{kg}$	10 (%43,5)	7 (%20,6)	34 (%45,9)
$5 \times 10^6/\text{kg}$'den fazla	6 (%26,1)	12 (%35,3)	23 (%31,1)

Sadece G-CSF ile mobilize edilen grupta birinci aferez gününde pCD34⁺ hücre sayısı $20-50/\mu\text{l}$ ve $50/\mu\text{l}$ üstü olan grupta aferez öncesi lökosit sayısı ve toplanan CD34⁺

hücre sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte negatif yönde bir korelasyon meyilinden söz edilebilir (sırasıyla; $p=0,085$ ve $p=0,059$). Yine aynı grupta ikinci aferez gününde sadece pCD34⁺ hücre sayısı 20-50/ μ l (N=17) olan grupta negatif bir korelasyon meyilinden bahsedilebilir ($p=0,058$).

Mobilizasyon rejimlerinden bağımsız olarak gruplar kümülatif olarak değerlendirildiğinde birinci aferez gününde pCD34⁺ hücre sayısı 11-20/ μ l olan grupta, aferez öncesi lökosit sayısı ile toplanan CD34⁺ hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı olmayan pozitif bir korelasyon meyili mevcuttur ($p=0,078$). İkinci aferez gününde ise pCD34⁺ hücre sayısı 20-50/ μ l olan grupta aferez öncesi lökosit sayısı ile toplanan CD34⁺ hücre sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif yönde bir korelasyon mevcuttur ($p=0,034$).

Çalışmaya alınan 167 hastanın, 14'ünde ya sadece dondurup saklama amacı olduğu ya da OHKHN endikasyonunun ortadan kalktığı saptandı, kalan 144 hastaya (%86,2) başarılı OHKHN yapıldı. Dokuz hastada toplama işlemi başarısızlıkla (%5,3) sonuçlanmış olup nakil yapılmayan diğer 14 hastada ise ürünler dondurup saklandı. Nötrofil engrafmanları tüm hastalarda hastanede yatış süresinde olduğu için kaydedilebilmiş olup, 26 hastada trombosit engrafmanı çıkış sonrasında olduğundan ya da olmadılarından ve hastalarda gerçek trombosit engrafman tarihleri bilinemediğinden, bu hastalar engrafman ile ilgili istatistik analizlerine alınmadı. Hastalara OHKHN sırasında hastalık tipleri ve durumlarına göre yüksek doz melfalan (140-200 mg/m²) (N= 76), BEAM (N= 67) ve yüksek doz ICE (N=1) olmak üzere toplam üç farklı tipte hazırlık rejimi verildi.

Nakil yapılan 144 hastada en az bir torba en fazla 15 torba ürün kullanılmış olup ortalama dört torba ürün hastaya infüze edildi. Ürünlerin hacimlerinin yüksek olması hastalarda klinik olarak sıvı retansiyonu, kardiyak yüklenme bulgularına (nefes darlığı, taşikardi vb.) neden olacağından fazla miktarda ürün torbasına sahip olan hastalarda infüzyon işlemi iki güne bölünerek yapıldı. Bu bağlamda hastaların ürün hacimlerine bakıldığında en düşük hacim 100 ml, en yüksek hacim 1826 ml olduğu gözlenmiş olup ortalama ürün hacmi ise 538 ml saptandı. Ürün hacmi görece az olan 122 hastada infüzyon işlemi tek günde yapılırken fazla olan 22 hastada iki gün şeklinde yapıldı.

Tüm hasta grubu değerlendirildiğinde nötrofil engrafmanı 8-15 gün aralığında olup ortanca değeri 11 gün (ortalama 10,7) trombosit engrafmanı ise 7-16 gün aralığında olup ortanca günü 11 (ortalama 11,1) olduğu belirlendi. Bu rejimler ile nötrofil ve trombosit

engrafman günleri karşılaştırıldığında melfalan tedavisi alanlarda nötrofil ve trombosit engrafmanları için ortalama gün sayısı sırasıyla 11,1 ve 11,2; BEAM tedavisi alanlarda 10,4 ve 10,9; , ICE tedavisi alanlarda ise 12 ve 15 olarak bulundu.

Dondurup saklama ve çözme işlemi ile toplanan CD34⁺ hücre sayısında kayıp meydana gelmektedir. Çalışmamızda bu işlemin etkisine bakıldığında, dondurulmadan önce sayılan CD34⁺ hücre sayısının ortalama %69,21 (en fazla kayıp %60 iken en az kayıp %0,5)'i çözüldükten sonra hastalara infüze edilebildi.

Hastalara infüze edilen CD34⁺ hücre miktarı ile nötrofil ve trombosit engrafman tarihleri arasında negatif korelasyon bulundu (p<0,0001) (Tablo 26). Aynı şekilde toplanan ve infüze edilen CD34⁺ hücre kayıp yüzdesi artması ile nötrofil ve trombosit engrafman günleri arasında pozitif korelasyon saptandı (p<0,0001). Nötrofil ve trombosit engrafman günlerine göre infüze edilen CD34⁺ hücre sayısının dağılımları Tablo 27'da gösterilmektedir.

Tablo 27: İnfüze edilen CD34⁺ hücre sayısı ile nötrofil ve trombosit engrafman günleri dağılımı.

İnfüze Edilen CD34 ⁺ hücre sayısı			İnfüze Edilen CD34 ⁺ hücre sayısı		
Nöt. Eng.	N	Ortalama±SS	PLT Eng.	N	Ortalama±SS
8	1	4,06	7	1	5,07
9	17	4,30±3,88	8	7	3,15±0,9
10	39	3,34±1,80	9	15	5,32±3,7
11	56	3,15±1,20	10	20	3,43±2,16
12	21	3,11±1,38	11	20	3,05±0,99
13	7	2,97±1,11	12	29	3,28±1,38
14	1	2,32	13	13	3,38±1,15
15	1	4,02	14	8	2,79±1,37
			15	3	3,96±0,3
			16	1	3,53

7. TARTIŞMA

OHKHN desteğinde yüksek doz kemoterapi, ileri hematolojik kanserlerde ve kemik iliği bozukluklarında önemli bir tedavi seçeneği olarak tümör direncini kıran yüksek doz kemoterapinin verilmesini sağlamaktadır. OHKHN yapılabilmesi için kemik iliği nişinde oturan CD34⁺ HKH'lerin iyatrojenik etkilerle periferik kana çıkartılması gerekmektedir. G-CSF, siklofosfamid ve benzeri kemoterapiler ayrıca pleriksafor gibi ajanlarla yapılan bu işleme mobilizasyon denilmektedir. Mobilizasyon işlemi ardından periferik kana çıkan hücreler dansite santrifügasyon yöntemi kullanılarak devamlı akım aferez cihazları ile toplanmaktadır. Toplanan hücreler uygun koşullarda dondurulup saklanmakta, hazırlık rejimi adı verilen YDKT sonrası çözülerek hastalara geri infüze edilmektedir. YDKT'yi takiben hastalarda evre 4 nötropeni ve trombositopeni gelişir, yaklaşık 10 gün sonrasında çözülüp verilen HKH'lerin engraftmanı sonrası, hematopoietik düzelme sağlanır.

Çalışmamızda hastanemizde ya da dış merkezlerde MM ve lenfoma tanılarıyla takipli, HKHN polikliniğine yönlendirilen, HKHN konseyinde değerlendirilerek OHKHN destekli YDKT endikasyonu ve/veya kök hücre toplanması hedeflenmiş ardışık 167 hastanın verileri geriye dönük olarak incelendi. Bu bağlamda mobilizasyon başarısızlığı, aferez başarısızlığı ya da nakil yapılamama gibi durumlar dışlama kriteri olarak sayılmadı.

Hastaların 57'si kadın, 110'u erkek cinsiyete sahipken; 31 HL, 55 HDL ve 81 MM hastası çalışmaya alındı. MM ve malign lenfoma olgularının 80'nin üzeri sayıda olmaları karşılaştırma ve değerlendirmelerde homojen bir yapı ve eşdeğer bir güç sağladı. Hastaların yaş ortalaması HL tanılı hastalar için 37±12,7 yıl, HDL tanılı hastalarda 47,4±13,9 yıl ve MM tanılı hastalarda 56,6±7,9 yıl idi. Mobilizasyon rejimi doz ayarlaması, elde edilen ürünlerin değerlendirilmesi, YDKT doz ayarlanması gibi bazı işlemler için hastaların VKİ, İVA, AVA ve AİVA vücut özellikleri ölçümleri kullanıldı. Çalışmamızda tüm hasta grupları birlikte değerlendirildiğinde hastaların %5,4'ü düşük kilolu, %33,5'i normal, %29,3'ü kilolu ve %31,8'inin ise obez olduğu gözlemlendi. Topçuoğlu ve ark. 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada OHKHN desteğinde YDKT yapılan 148 hastanın İVA, AVA ve AİVA için ortanca değerler sırasıyla 65 (42-85), 72 (38-110) ve 55 (42-91) olarak saptanmıştır (103). Bahsedilen literatür bulgusu ile uyumlu olarak bizim çalışmamızda da hastaların İVA değerleri erkeklerde 46 - 84 kg arasında değişmekte olup

ortalama 67,6±6,9 kg olarak, kadınlarda ise 36,1-62,3 kg arasında ortalama 50,6±5,6 kg arasında değişmekteydi. Benzer şekilde AVA değerleri erkeklerde 53,7-96,2 kg arasında değişmekte olup ortalama 73,4±8,5 kg olarak, kadınlarda ise 45,4-92,2 kg arasında ortalama 79,9±7,9 kg olarak saptandı. AİVA değerleri ise erkeklerde 48,1-85,6 kg arasında değişmekte olup ortalama 69±6,9 kg olarak, kadınlarda ise 41,1-64 kg arasında ortalama 52,4±5,4 kg olarak hesaplandı.

Hastalık özelliklerine bakıldığında çalışmaya alınan 31 HL olgusunda en sık nodüler sklerozan (%45,2), en az sıklıkta ise lenfositten zengin (%6,5) ve lenfosit predominant (%6,5) tiplerden oluştuğu belirlendi. HL hastalarının evrelerine bakıldığında, Evre 2 hastalık 7 (%22,6), Evre 3 hastalık 17 (%54,8) ve Evre 4 hastalık 7 (%22,6) hastada saptandı. HDL olgularında en sık DBBHL gözlenirken en az sıklıkla lenfoblastik T hücreli lenfoma gözlemlendi. HDL olgularının hastalık evrelerine bakıldığında ise Evre 1 hastalık 3 (%5,4), Evre 2 hastalık 4 (%7,2), Evre 3 hastalık 23 (%41,7) ve Evre 4 hastalık 25 (%45,7) hastada saptandı. MM olguların da en sık İg G Kappa, ikinci en sık İg G Lambda tipi gözlenirken en az sıklıkla İg M Lambda tipi hastalık gözlemlendi. Durie-Salmon evreleme sistemine göre Evre 1 hastalık 2 (%2,5), Evre 2 hastalık 6 (%7,4), Evre 3 hastalık 69 (%85,1) hastada bulunurken multiple plazmositom tanılı 4 hasta evrelendirilemedi. Evre 3A hastalığa sahip hasta sayısı 57 (tüm grup içerisinde %70,3) iken Evre 3B hastalığa sahip hasta sayısı ise 12 (tüm grup içerisinde %14,8) idi.

Tüm hasta grupları göz önüne alındığında kemoterapi seri sayısı açısından hastaların 48 (%29,4)'i tek seri, 87 (%53,3)'si iki seri, 30 (%18,4)'u üç ve üzeri seri aldığı gözlemlendi. Ayrıca hastaların 104 (%62,3)'ü radyoterapi almazken, 63 (%37,7)'ü radyoterapi almıştı. Bu sonuçlar literatür bulgusu ile benzer özellikler taşımaktadır. Örneğin mobilizasyon rejimlerinin değerlendirildiği 90 MM ve 25 HDL olgusunun alındığı bir çalışmada hastaların OHKHN öncesi aldıkları kemoterapi seri sayısı MM için ortanca 1 (1-6), HDL için 3 (1-5) olarak belirtilirken MM hastalarının %25'i, HDL hastalarının ise %20'si radyoterapi tedavisi almışlardır (104). Tüm bu tedaviler sonrası OHKHN eşliğinde YDKT öncesinde HL olgularının 4 (%12,9)'ü, HDL olgularının 9 (%16,4)'u kemorefrakter iken, HL olgularının 27 (%87,1)'si, HDL olgularının ise 46 (%83,6)'sı kemosensitif. MM olgularının ise 17 (%20,9)'si TY, 22 (%27,2)'si KY, 40 (%49,5)'i progresif hastalık halindeyken OHKHN eşliğinde YDKT kararı verildi.

Periferik HKH mobilizasyonun başarısızlığını etkileyen bazı faktörler mevcuttur. Bunlar daha önce alınan kemoterapisi sayısı, daha önce kullanılan alkilleyici ajanlar, kanser tipi, 60 yaşından büyük olmak, kemik iliği yapım bölgelerine alınan radyoterapi ve uygunsuz mobilizasyon rejimidir (105). Sadece sitokinler özellikle de G-CSF ile mobilizasyon yapmak gerekli hücre sayısına ulaşmak için birden çok aferez yapılmasını gerektirebilmektedir. Sitokinler ile mobilizasyona kemoterapi eklemek toplanan hücre sayısını arttırmaktadır. Ancak kullanılan kemoterapi için standart bir yaklaşım mevcut değildir. Bu bağlamda literatür incelendiğinde hastaların %91'inde sadece G-CSF ile mobilizasyon işlemi sonrası tek aferezle 2×10^6 CD34⁺ hücre/kg'nın üzerinde hücre toplanabildiği, bir başka derlemede ise HDL ve HL hastalarında sadece G-CSF ile hastaların %23'ünde mobilizasyon başarısızlığı bildirilmiştir (106). Sitokin ile mobilizasyona kemoterapinin eklenmesiyle CD34⁺ hücre sayısının lökosit değerinin %6'sına ulaşacak kadar yükseldiği gözlenmiştir (107). Bu bağlamda sadece G-CSF ile mobilize edilemeyen hastalarda kemoterapi ile mobilizasyon bir diğer önemli ajandır. Pleriksafor şu an mevcut tek CXC-R-4 antagonistidir ve uygulanmasının ardından 6.-9. saatlerde HKH'lerin periferik kanda zirve sayıya ulaşmasını sağlamaktadır. Lefrere ve ark. 2013'te yayınlanan pleriksafor ile mobilizasyon sonrası aferez zamanlaması ile ilgili bir çalışmada 13 hastanın %85'inde mobilizasyon sağlanırken bir diğer çalışmada benzer hasta grubunda %71 mobilizasyon başarıları elde edilebilmiştir (106, 108). Birbirlerinden farklı etki mekanizmaları nedeniyle G-CSF ve pleriksaforun sinerjistik etki gösterdikleri bilinmektedir. Ancak pleriksaforun çığır açıcı bu etkilerine rağmen hala hastaların %30'unda mobilizasyon başarısızlığı gözlenmektedir (109).

Bizim serimizde de literatür bulgularıyla uyumlu olarak hastaların 121 (%72)'inde sadece G-CSF ile mobilizasyon sağlanmıştır. Sadece G-CSF ile mobilize edilemeyen 22 (%13,1) hasta kemoterapi ve G-CSF ile mobilize edilmiştir. Toplam 17 hastada pleriksafor kullanımı olmuş bunların 3'ünde pCD34⁺ hücre sayımının yetersiz saptanması üzerine aferez işlemi yapılmamıştır. Pleriksafor kullanılan hastaların %57,1'inde başarılı mobilizasyon sağlanmıştır. İki MM biri HDL hastası olmak üzere, üç hastada mevcut rejimlerle mobilizasyon sağlanamadığı için kemik iliği toplama işlemi yapılmış ve takiben kümülatif yeterli HKH toplamı ($>CD34^+ 2 \times 10^6/kg$) sağlanabildiği için OHKN ve YDKT başarı ile gerçekleştirildi. Hastalar kemoterapi seri sayısına göre değerlendirildiğinde, tüm gruplar ağırlıklı olarak literatür ile uyumlu olarak sadece G-CSF ile mobilize edilebildi.

Mobilizasyon sonrası aferez işlemi öncesi pCD34⁺ hücre sayısının, MM ve lenfoma tanımlı hastalarda mobilizasyon ve toplama başarısının önemli bir ölçütü olduğu bilinmektedir, pCD34⁺ hücre sayımı yapılması mobilizasyon sonrasında hücre toplama zamanlaması, maliyeti ve başarısı için standart bir uygulamadır. pCD34⁺ seviyesi 20/μl'nin altında olan hastaların mobilizasyon başarısızlığı adayı olarak kabul edildiği bildirilmiştir (110, 111). pCD34⁺ sayısı daha önce bahsedilen mobilizasyon başarısını etkileyen faktörlerden de etkilendiği belirtilmiştir (112). Çalışmamızda aferez öncesinde elde edilen pCD34⁺ hücre sayısı 0-225/μl arasında değişmekte olup ortanca 18,0/μl'dir. Hastalık tipleri açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmamasıyla birlikte MM olgularında sadece G-CSF ile mobilizasyon sonrası değerlendirilen pCD34⁺ hücre sayısı HL ve HDL olgularından istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu bulundu. Bu durum olgularda birinci sıra yaklaşımla %90 üzeri başarı sağlanmasının önünü açmıştır. MM olgularının pCD34⁺ hücre sayısı HDL olgularınınkinden anlamlı olarak yüksek (29 vs 14, p=0,001); HL olgularından ise anlamlılığa yakın oranda yüksek (29 vs 16, p=0,074) olduğu saptandı. Çalışmamızla uyumlu olarak Milone ve ark. 2013'te yayınlanan makalesinde MM hastalığında pCD34⁺ hücre sayısının daha yüksek olduğu ve başarılı mobilizasyonun daha fazla olduğu belirtilmiştir (111). Çalışmamızda siklofosfamid ya da pleriksafor ile yapılan mobilizasyon sonrası pCD34⁺ hücre sayımlarında ise fark belirlenmedi. Micallef ve ark. yaptığı bir çalışmada 60 yaş üzerinde olmak başarısız mobilizasyon ve düşük pCD34⁺ hücre sayısı ile ilişkilendirilirken (113) çalışmamızda dekatlara göre sınıflanan yaş grupları değerlendirildiğinde pCD34⁺ hücre sayımı açısından istatistiksel anlamlı herhangi bir fark saptanmadı. Literatürde BKİ'ye ait benzer çalışma saptanamamakla birlikte çalışmamızda yapılan değerlendirmeye göre kilolu kişilerde pCD34⁺ hücre sayımı normallere (28 vs 17, p=0,014) ve düşük kilolulara göre (28 vs 14, p=0,034) anlamlı olarak yüksek bulundu. Obezlerde düşük kilolulara göre anlamlı olarak yüksek (27 vs 14, p=0,046) iken normal kilolular ile karşılaştırıldığında anlamlılığa yakın oranda (27 vs 17, p=0,063) yüksek bulundu. BKİ'lerine göre mobilizasyon rejimleri değerlendirildiğinde, pCD34⁺ hücre sayımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Kilolu ve obez olguların %98,4'ü başarı ile mobilize edilip HKH toplanabildi. Alegre'ye göre hastaların özellikle alküleyici ajanları içeren kemoterapi rejimleri almaları ve seri sayılarının fazla olması, aynı zamanda radyoterapi tedavisi almaları mobilizasyon başarısızlığı ile ilişkilendirilmiştir

(114). Aynı zamanda Seggewiss ve ark. yaptıkları bir çalışmada kemoterapi sayısı arttıkça pCD34⁺ hücre sayısının azaldığı gösterilmiştir (115). Bu açıdan değerlendirildiğinde bizim çalışmamızda pCD34⁺ hücre sayımı ile hastaların radyoterapi alıp almadıkları arasında herhangi bir istatistiksel anlamlılık bulunmazken sadece G-CSF rejimi sonucu elde edilen pCD34⁺ hücre sayımında alınan kemoterapi seri sayısı arttıkça istatistiksel anlamlılığa ulaşmayan düşüş gözlemlendi. Tek, iki ve üç seri kemoterapi alan hastalarda ortalama pCD34⁺ hücre sayımı sırasıyla 25, 23 ve 14/μl olarak saptandı. Literatür bilgileri (115, 116) ile uyumlu olarak hastaların pCD34⁺ hücre sayıları ile sadece G-CSF, kemoterapi veya pleriksaför ile mobilizasyon sonrası toplanan CD34⁺ hücre sayıları arasında pozitif korelasyon saptandı (sırasıyla; p<0,001, p=0,002 ve p=0,001).

Çalışmada yer alan 167 hastanın sadece dördünde, pCD34⁺ hücre sayımı, işlem için yeterli olmadığından aferez yapılmadı. Kalan 163 hastada mobilizasyon rejimlerinden bağımsız olarak toplam 245 aferez işlemi yapıldı. İşlenen kan hacmi ise 6000-19910 ml arasında olmak üzere ortalama 11166 ml olduğu bulundu. İşlem süresi 126-398 dk arasında değişirken ortalama 242 dk'da yatak başı devamlı akım lökoferez yapıldı. Kozuka ve ark. 2004 senesinde yayınlanan çalışmasında aferez öncesi lökosit sayısı ortanca 39,8x10⁹ (19,2-90,7)/L olarak saptanırken toplanan CD34⁺ hücre sayısı ortanca 2,3x10⁶ (0,23-9,00)/L olarak saptanmıştır (112). Bu çalışma ile uyumlu olarak çalışmamızda aferez işlemi öncesi lökosit sayısı 3,67-65,8x10⁹/L arasında değişirken ortalama 30,46x10⁹/L olduğu gözlemlendi. Aferez sonrası elde edilen toplam CD34⁺ hücre sayısı 0,2-33,9 x 10⁶/kg arasında değişirken ortalama 3,3 x 10⁹/kg olarak belirlendi.

Aferez işlemi verileri yani toplam kan hacmi, işlenen kan hacmi, işlem süresi, aferez öncesi lökosit sayısı ve aferez sonrası CD34⁺ hücre sayımı arasında korelasyon analizleri yapıldı. Tüm aferez işlemlerinde toplam kan volümü, işlenen kan volümü ve işlem süresi arasında pozitif korelasyon saptandı (hepsi için p<0,05). Sadece G-CSF ile yapılan mobilizasyonun 2. aferez gününde CD34⁺ hücre sayımı ile toplam kan hacmi ve işlenen kan hacmi arasında korelasyon belirlendi (sırasıyla; p=0,020, p=0,004).

Rinaldi ve ark. yaptığı 2012 yılında yayınlanan bir çalışmada mobilizasyon başarısının yaşla birlikte azaldığı bildirilmiştir (116). Ancak çalışmamızda toplanan toplam CD34⁺ hücre sayılarının yaş grupları arasında dağılımında ortalama ve ortanca değerleri benzerdi (117). Bu açıdan değerlendirildiğinde yaşlı hastalarda da etkin mobilizasyon yapılarak yeterli periferik HKH toplanabileceği düşünülebilir. Birim (ml) başına elde

edilen CD34⁺ hücre sayısını elde edebilmek için, farklı mobilizasyon rejimlerinden sonra her aferez için; *(aferez sonrası toplanan CD34⁺ hücre sayısı x vücut ağırlığı (kg)) / işlenen kan hacmi (ml)* formülü uygulanmıştır. Bu bağlamda her farklı mobilizasyon rejimi için aferez sayısı arttıkça birim başına elde edilen CD34⁺ hücre sayısı ortalama ve ortanca değerlerinin azaldığı saptandı. Sadece G-CSF ile yapılan mobilizasyon sonrasında 1. aferez, 2. aferez ve 3. aferez günlerinde sırasıyla birim (ml) başına ortalama 22,9; 11,09 ve 7,85x10³ toplanmıştır, bu durum aferez veriminin aferez sayısı arttıkça azaldığını göstermektedir.

Toplam MNC sayımı ile toplanan CD34⁺ hücre sayımı arasında sadece G-CSF ve kemoterapi ile mobilizasyon yapılan hastalarda herhangi bir korelasyon saptanmadı. Ancak yine Kozuka ve ark. yaptığı 2004 yılında yayınlanan bir makalede mononükleer hücre sayısı ile toplanan CD34⁺ hücre sayısında pozitif korelasyon bulunduğu bildirilmiştir (112). Pleriksafor ile mobilize edilen hastalarda ilk aferez sırasındaki toplam mononükleer hücre sayısı ile toplanan CD34⁺ hücre sayısı arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (p=0,01)

Sancho ve ark. yaptıkları 2012 senesinde yayınlanan bir çalışmada toplanan CD34⁺ hücre sayısının düşük olması hastalık tipi, pürin analogları ile yapılan tedaviler ve çoklu kemoterapi kullanımı ile ilişkilendirilmiştir (118). La Rubai ve ark. yaptıkları bir çalışmada 60 yaş eşik değeri kabul edilerek yaş büyüdükçe mobilizasyon başarısızlığının arttığını bildirmektedirler (119). Literatürde radyoterapinin toplanan CD34⁺ hücre sayısına olumlu ve olumsuz etkisi olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (120). Aynı şekilde alınan kemoterapi tipi ve seri sayısı ile toplanan hücre sayısı arasındaki ilişki açısından farklı sonuçlara sahip çalışmalar olmasına rağmen Lacatia ve ark. yaptıkları 2012 senesinde yayınlanan bir makalede radyoterapi ve kemoterapi rejimleri ile toplanan CD34⁺ hücre sayısı arasında herhangi bir ilişki saptamamıştır (121). Çalışmamızda yapılan toplam 245 aferez işleminin %46,5'inde toplanan CD34⁺ hücre sayısı 2x10⁶/kg'nın altında bulundu. Aferez başına HL tanılı hastaların 7 (%30,4)'sinde, HDL tanılı hastaların 15 (%44,1)'inde ve MM tanılı hastaların 17 (%23)'sinde 2x10⁶/kg'nın altında hücre toplandı. Aynı gruplama sistemi hastaların yaş, daha önce aldıkları kemoterapi seri sayısı ve radyoterapi alıp almadıklarına göre değerlendirildi, gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.

Calvet ve ark. OHKHN yapılan 342 hastayı değerlendirdikleri bir çalışmada nötrofil engrafmanı ve trombosit engrafmanı için medyan gün sayısı sırasıyla 13 (1-43) ve 12 (1-125) olarak saptanmıştır (122). Engrafman tarihlerinin nakil sonrasında uygulanan G-CSF ve infüze edilen CD34⁺ hücre miktarı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. İlhan ve ark. tarafından 1998 senesinde yayınlanan 45 allojeneik nakil hastasında yapılan bir çalışmada ise medyan nötrofil ve trombosit engrafman günleri sırasıyla 15 (11-44) ve 14 (11-54) olarak saptanmıştır, verilen CD34⁺ hücre miktarı ile nötrofil engrafmanı arasında yakın ilişki olduğu gözlenmiştir (122). Çalışmamızda ise tüm hasta grubu değerlendirildiğinde nötrofil engrafmanı 8-15 gün aralığında olup ortanca değeri 11 gün trombosit engrafmanı ise 7-16 gün aralığında ve ortanca günü 11 olduğu belirlendi. Hazırlık rejimleri ile nötrofil ve trombosit engrafman günleri karşılaştırıldığında melfalan tedavisi alanlarda nötrofil ve trombosit engrafmanları için ortalama gün sayısı sırasıyla 11,1 ve 11,2; BEAM tedavisi alanlarda 10,4 ve 10,9; ICE tedavisi alanlarda ise 12 ve 15 olarak bulundu. Hastalara infüze edilen CD34⁺ hücre miktarı ile nötrofil ve trombosit engrafman tarihleri arasında negatif korelasyon bulundu (p<0,0001). Aynı şekilde toplanan ve infüze edilen CD34⁺ hücre kayıp yüzdesi artması ile nötrofil ve trombosit engrafman günleri arasında pozitif korelasyon saptandı (p<0,0001). Toplanan kök hücre miktarının artması engrafman kinetiklerini olumlu yönde etkileyerek engrafman süresini kısaltmaktadır. Diğer yanda dondurma sonrası çözme işlemini takiben hastaya infüze edilen CD34⁺ hücre miktarı hesaplanarak kayıplara bakıldığında, kayıp arttıkça toparlanma süresi uzamakta, başka bir deyişle engrafman olumsuz yönde etkilenmektedir.

Çalışmamızın olumlu yönleri olarak; görece yeni kurulan bir nakil merkezinde yapılmış olması, kök hücre nakli konusunda deneyimli hekim, hemşire ve personeller tarafından işlemlerin gerçekleştiriliyor olması, tek merkezde tüm hastalarda aynı iş akışı ile hasta, hastalık ve nakil sürecinin yönetiliyor olması, olgu sayısının yeterli, kısa sürede, homojen bir yapıda ve ardışık şekilde değerlendirilmeleri sayılabilir. Birinci, ikinci ve üçüncü sıra mobilizasyon rejimleri aynı stratejiyle uygulanmıştır. Aynı şekilde çalışmaya sadece nakil yapılan hastaların değil, OHKHN adayı tüm hastaların alınmış olmasının verilerin güvenilirliği ve “salt kök hücre toplama” hedefi açısından da önemli olduğunu düşünüyoruz.

Çalışmamızın olumsuz yönleri olarak ise; ülkemizde mevcut hematopoietik kök hücre merkezi ve hasta sayısı arasında olan uyumsuzluk nedeniyle hasta çıkış işlemlerinin

hasta yararı gözetilerek hızlı olması nedeniyle trombosit engrafman zamanlarının net değerlendirilememiş olması, tarafımıza yönlendirilen hastaların tanı ve takipleri sırasında uygulanan tanı yöntemleri ve tedaviler hakkında bilgi eksikliklerinin mevcut olması ve tamamlanamaması, çözülme anında infüze edilmeden önce yapılan CD34⁺ hücre sayımı yöntemi konusunda standardizasyon eksikliği sayılabilir.

8. SONUÇ

Çalışmamızda 167 hastalık homojen kohortumuzda, MM olgularının büyük çoğunluğunda, lenfomaların en az 2/3'ünde G-CSF tek başına kullanılarak mobilizasyon sağlandı. G-CSF ile toplanamayan olguların en az yarısında kemoterapi ve G-CSF ya da 2. ve 3. sırada pleriksafor kullanılarak başarılı mobilizasyon elde edildiği gösterildi. HKH toplanma başarısında literatürde daha önce vurgulandığı gibi özellikle alınan kemoterapi seri sayısının olumsuz etkisi belirgin olarak izlenirken, radyoterapi ile benzer ilişki gözlenmedi. Bu durum olguların çoğunluğunun pelvis dışı radyoterapi alması ile açıklanabilir. Hastalık tabanlı özelliklerde MM olgularında etkin mobilizasyon bu olguların lenfoma olguları gibi relaps/refrakter hastalık durumunda olmalarından dolayı değil, tedavi sonrası ilk cevapta pekiştirme yapıldığından az etkilendikleri şeklinde yorumlanabilir. Hastaların vücut ağırlıkları ve indeksleri ile mobilizasyon ve HKH toplanması arasında bir ilişki saptanmadı, ideal olarak hangi VA indeksinin kullanılacağı konusuna net bir açıklık getirilemedi. Obez olgularda da başarı ile HKH toplanabilmektedir. Yaş faktörü de çalışma grubumuzda olumsuz bir unsur olarak değerlendirilmedi. Toplanan kök hücre miktarı arttıkça engrafman süreleri kısalırken, dondurarak saklama ve çözme sonrası elde edilen CD34⁺ hücre sayısına göre yapılan kayıp analizinde, kaybedilen CD34⁺ hücre miktarının engrafmanı uzattığı yani olumsuz etkilediği gösterildi. İlk aferez işlemi etkinlik açısından büyük önem kazanmakta, bu nedenle zamanlama ve birim hacim başına etkin CD34⁺ hücre kazancının değerli olduğu, ardışık işlemlerde etkinliğin azaldığını çalışmamızda gördük. Özellikle ardışık işlemlerde lökosit sayısı artarken pCD34⁺ hücre miktarının korele artmaması etkinliği ve toplanan CD34⁺ hücre miktarını azaltan önemli bir unsurdur.

Bu veriler ve analizlerden çıkarımımız ilk gün kazancını arttırmaya çalışmalı, hastaların fazla sıra kemoterapi almaksızın OHKHN için uygun zamanlama ile yönlendirmeleri için çaba sarfetmeliyiz. Kendi grubumuz hastaları ile dış merkezlerden yönlendirilen hastalar arasında mobilizasyon etkinliğini de araştırmayı hedefledik. Obez ve ileri yaş hastalar konusunda bir çekinceye yer vermeden başarılı şekilde hücre toplanabilip OHKHN yapılabildiğini düşünmekteyiz. HKH kök hücre miktarını hesaplamak için vücut özellikleri ölçümlerinden hangisinin kullanılması gerektiği konusunda net bir sonuca ulaşamadık, güncel gerçek vücut ağırlığının kullanılmasına devam edeceğiz. Hazırlık

rejimlerinde doz uyarlaması ile CD34⁺ hücre dozu ilişkisini ayrı bir araştırmada değerlendirmek bu duruma görece açıklık getirebilir.

Toplanan hücrelerin dondurma, saklanma ve çözme işlemlerinde standardizasyona gereksinim olduğunu düşünüyoruz. Kayıpların nedeni ve olumsuz etkisi giderilmelidir. Hücre canlılığı ile infüze edilen CD34⁺ hücre miktarı konusunu da ayrıca araştırmayı hedefledik. Hemen tüm olgularda engrafmanın sağlanabilmiş olması nedeniyle sadece kalite yönetimi açısından seçilmiş örneklerde çözünen üründen CD34⁺ hücre sayısı değerlendirilmesi yapılabilir.

1990'lı yıllardan beri neredeyse rutin bir uygulama haline gelen OHKHN desteğinde YDKT'de hala ileri araştırma ve bilgilere gereksinim olduğu aşıkardır. Bu tez çalışması ile homojen bir kohortta bunları yeniden ortaya koymak ve analiz etmek şansına sahip olduğumuzu düşünüyoruz.

9. TEŞEKKÜR

Başta T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi kurucusu saygıdeğer merhum Prof. Dr. Cem'i Demiroğlu'na, mütevelli heyeti başkanı sayın hocam Prof. Dr. Cemşid Demiroğlu'na, T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi rektörü sayın hocam Prof. Dr. Çavlan Çiftçi'ye, T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi dekanı sayın hocam Prof. Dr. Emine Sönmez'e, İç Hastalıkları Anabilim Dalı başkanı sayın hocam Prof. Dr. Aslı Çurgunlu'ya,

Bu tezin gerçekleşmesinde bütün yardım ve yönlendirmeleri için, uzmanlık eğitimim boyunca engin deneyim ve bilgisinden yararlandığım, uzun süre çalışma fırsatı bulduğum için kendimi şanslı hissederek örnek aldığım çok değerli hocam Prof. Dr. Mutlu Arat'a,

İstifa etmeyi düşündüğüm dönemlerde dahi bana mesleğin özelliklerini hatırlatarak destek veren, hekimlik mesleğine duyduğu sevgiyi örnek aldığım sevgili hocam Prof. Dr. Reyhan Diz Küçükkaya'ya

HKHN servisinde geçirdiğim dönem boyunca bana bilgi ve deneyimlerini aktarmaktan yılmayan, kişilik özelliklerini ve hastalarına gösterdiği şefkati örnek aldığım çok değerli hocam Doç Dr. E. Tülay Özçelik'e

Uzmanlık eğitimin süresinde bilgi ve birikimlerini daima bizlere aktarma çabası içerisinde olan, sorunlarımızı dinleyen ve çözüm arayan, bilimsel ve insani yönleriyle de örnek aldığım değerli hocalarım Prof. Dr. Gökhan Demir'e, Prof. Dr. Levent Erdem'e, Prof. Dr. Şule Kurhan Yavuz'a, Prof. Dr. H. Betül Uğur Altun'a, Prof. Dr. Süheyla Güven Apaydın'a, Prof. Dr. Canan Efendizil Karatay'a, Doç. Dr. Murat Akyıldız'a, Doç. Dr. Pınar Seymen'e, Doç. Dr. Songül Şerefhanoglu'na, Doç. Dr. Sezer Sağlam'a, Yard. Doç. Dr. S. Kerem Okutur'a, Yard. Doç. Dr. Yonca Çağatay'a ve Yard. Doç. Dr. Neslihan Yılmaz'a,

Eğitimimin içeriği gereği rotasyon süreçlerim boyunca benden yardımlarını esirgemeyen sayın hocalarım Prof. Dr. Yüksel Altuntaş'a, Prof. Dr. Ferah Ece'ye, Prof. Dr. Cem Balcı'ya, Doç. Dr. Nurcan Arat'a, Yard. Doç. Dr. Zehra Çağla Karakoç'a

Yine uzmanlık eğitimim boyunca değerli bilgilerini benimle her zaman paylaşan ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Uzm. Dr. Kübra Aydın'a, Uzm. Dr. Mustafa

Bozkurt'a, Uzm. Dr. Esat Namal'a, Uzm. Dr. Akın Öztürk'e, Uzm. Dr. Kezban Pilancı'ya, Uzm. Dr. Fehmi Hindilerden'e, Uzm. Dr. Serkan Güvenç'e, Uzm. Dr. Fatih Gökhan Akbay'a ve Uzm. Dr. Nergis Ekmen'e,

İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda geçirdiğim süre boyunca birlikte çalıştığım Uzm. Dr. Mehmet Yavuz Gürler'e, Uzm. Dr. Necla Demir'e, Uzm. Dr. Can Turan'a, Dr. Bedi Yoğurtçuoğlu'na, Dr. Neslihan Demirçiler Uslu'ya, Dr. Mehtap Üçer'e, Dr. Aydan Arslan'a ve Dr. Gizem Timoçin'e,

Avrupa Florence Nightingale Hastanesi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde birlikte çalıştığım tüm meslektaşlarıma, hemşirelere ve sağlık personeline,

HKHN nakil servisi sorumlu hemşiresi Ebru Koç nezinde tüm servis hemşireleri ve personeline; tez yapım sürecindeki katkıları için Aferez Ünitesi çalışanları Aydın Kargın'a, Necmettin Yazıcı'ya, Yaşar Sazaklı'ya ve ünitesi sorumlusu sayın hocam Uzm. Dr. Hülya Bilgen'e,

Eş kıdem olarak tanıştığım ama uzmanlık sürem boyunca desteğini her an hissettiğim, bu eğitimi birlikte aldığım ve belki de borçlu olduğum sevgili dostum Dr. Burcu Kurt'a

Tüm hayatım boyunca her konuda yardımını benden esirgemeyen, hayata tutunmamı sağlayan, tez sürecinde de elini hep omzumda hissettiğim, dürüst bilim insanı sevgili dostum Dr. Vuslat Yılmaz'a ve bu dönemi, depresifliğime rağmen çok uzaklardan neşesiyle daha atlatılabilir kılan mutluluk kaynağıma,

Tüm hayatım ve eğitim yaşantım boyunca özveri ve desteklerini benden esirgemeyen, tüm olumsuzluklarımı aşmam için benden çok çabalayan canım babam Ali Hasbal, canım annem Sevil Hasbal, canım ablam Oya Hasbal Abay ve canım abim Zafer Hasbal'a teşekkürlerimi sunarım.

Sonsuz sevgi, saygı ve şükranlarımla...

Dr. Nuri Barış Hasbal, 2013

10. KAYNAKLAR

1. Fauci, Braunwald, Kasper, Hauser, Longo, Jameson and Loscalzo. Türkçe Harrison's Principles of Internal Medicine. Çeviri Editörü: Prof. Dr. Kadir Biberoglu. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2013, S: 701-703.
2. Fauci, Braunwald, Kasper, Hauser, Longo, Jameson and Loscalzo. Türkçe Harrison's Principles of Internal Medicine. Çeviri Editörü: Prof. Dr. Kadir Biberoglu. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2013, S: 687-700.
3. Kumar A, Loughran T, Alsina M, Durie BG, Djulbegovic B. Management of multiple myeloma: a systematic review and critical appraisal of published studies. *Lancet Oncol.* 2003, 4(5): 293-304.
4. Le Gouill S, De Guibert S, Planche L, Brice P, Dupuis J, Cartron G, Van Hoof A, Casasnovas O, Gyan E, Tilly H, Fruchart C, Deconinck E, Fitoussi O, Gastaud L, Delwail V, Gabarre J, Gressin R, Blanc M, Foussard C, Salles G; GELA and GOELAMS. Impact of the use of autologous stem cell transplantation at first relapse both in naive and previously rituximab exposed follicular lymphoma patients treated in the GELA/GOELAMS FL2000 study. *Haematologica.* 2011 Aug;96(8):1128-35
5. Ljungman P, Urbano-Ispizua A, Cavazzana-Calvo M, Demirer T, Dini G, Einsele H, Gratwohl A, Madrigal A, Niederwieser D, Passweg J, Rocha V, Saccardi R, Schouten H, Schmitz N, Socie G, Sureda A, Apperley J; European Group for Blood and Marrow. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe. *Bone Marrow Transplant.* 2006 Mar;37(5):439-49.
6. Richman CM, Weiner RS, Yankee RA. Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man. *Blood.* 1976, 47 (6): 1031-9.
7. Winkler IG, Sims NA, Pettit AR, et al. Bone marrow macrophages maintain hematopoietic stem cell (HSC) niches and their depletion mobilizes HSCs. *Blood.* 2010, 116(23): 4815-4828.
8. Fricker SP, Anastassov V, Cox J, et al. Characterization of the molecular pharmacology of AMD3100: a specific antagonist of the G-protein coupled chemokine receptor, CXCR4. *Biochem Pharmacol.* 2006, 72(5):588-596.

9. Schulman KA, Birch R, Zhen B, Pania N, Weaver CH. Effect of CD34+ cell dose on resource utilization in patients after high-dose chemotherapy with peripheral-blood stem-cell support. *J Clin Oncol.* 1999,17(4):1227.
10. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Sağlık Araştırmaları Genel Müdürlüğü. T. C. Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı. Ankara, 2012.
11. Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple Myeloma. *N Engl J Med.* 2004, 351:1860-1873
12. BrennerH, Gondos A, Pulte D. Recent major improvement in long-term survival of younger patients with multiple myeloma. *Blood.* 2008, 111: 2521-2526.
13. Bergsagel PL, Kuehl WM. Molecular pathogenesis and a consequent classification of multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 2005, 23: 6333-6338.
14. Roodman GD. Pathogenesis of myeloma bone disease. *Leukemia.* 2009, 23: 435-441.
15. Durie BG, Kyle RA, Belch A, Bensinger W, Blade J, et al. Myeloma management guidelines: a consensus report from the Scientific Advisors of International Myeloma Foundation. *Hematol J.* 2003, 4: 379-398
16. Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia.* 2009, 23: 3-9.
17. Fonseca R, Bergsagel PL, Drach J, Shaughnessy J, Gutierrez N, et al. International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia.* 2009, 23: 2210-2221.
18. Greipp PR, San MiguelJ, Durie BG, Crowley JJ, Barlogie B, et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 2005, 23: 3412-3420.
19. Türk Hematoloji Derneği. Multiple Miyelom Tanı ve Tedavi Kılavuzu Sürüm 1. Ankara, Efil Yayınevi, 2011.
20. Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, Charbonnel C, Garban F, et al. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: The experience of th Intergroupe Francophone du Myeloma. *Blood.* 2007, 109: 3489-3495.
21. Kyle RA, Rajkumar SV. Treatment of multiple myeloma: a comprehensive review. *Clin Lymphoma Myelom.* 2009, 9: 278-288.
22. Kyle RA, Remstein ED, Therneau TM, Dispenzieri A, Kurtin PJ, et al. Clinical course and prognosis of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *N Eng J Med.* 2007, 356: 2582-2590.

23. Kyle RA, Durie BG, Rajkumar SV, Landgren O, Blade J, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia*. 2010, 24: 1121-1127.
24. Myeloma Trialists' Collaborative Group. Combination chemotherapy versus melphalan plus prednisone as treatment for multiple myeloma: an overview of 6,633 patients from 27 randomized trials. *J Clin Oncol*. 1998, 16(12):3832-3842.
25. Alexanian R, Barlogie B, Tucker S. vAD-based regimens as primary treatment for multiple myeloma. *Am J Hematol*. 1990, 33: 86-89.
26. Cavo M, Zamagni E, Tosi P et al. Superiority of thalidomide and dexamethasone over vincristine-doxorubicin-dexamethasone (vAD) as primary therapy in preparation for autologous transplantation for multiple myeloma. *Blood*. 2005, 106: 35-39.
27. Rajkumar Sv, Rosiñol L, Hussein Met al. Multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study of thalidomide plus dexamethasone compared with dexamethasone as initial therapy for newly diagnosed multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2008, 26: 2171-2177.
28. Palumbo A, Bringhen S, Caravita T et al. Oral melphalan and prednisone chemotherapy plus thalidomide compared with melphalan and prednisone alone in elderly patients with multiple myeloma: Randomised controlled trial. *Lancet*. 2006, 367: 825- 831.
29. San Miguel J, Schlag R, Khuageva N et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2008, 359: 906 - 917.
30. Ludwig H, Beksac M, Bladé J et al. Current multiple myeloma treatment strategies with novel agents: a European perspective. *Oncologist*. 2010, 15(1):6-25.
31. Cavo M, Tosi P, Zamagni E, et al. Prospective, randomized study of single compared with double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma: Bologna 96 clinical study. *J Clin Oncol*. 2007, 25(17): 2434-2441.
32. Ludwig H, Durie BG, McCarthy P, Palumbo A, San Miguel J, Barlogie B, Morgan G, Sonneveld P, Spencer A, Andersen KC, Facon T, Stewart KA, Einsele H, Mateos MV, Wijermans P, Waage A, Beksac M, Richardson PG, Hulin C, Niesvizky R, Lokhorst H, Landgren O, Bergsagel PL, Orłowski R, Hinke A, Cavo M, Attal M; International

- Myeloma Working Group. IMWG consensus on maintenance therapy in mutiple myeloma. *Blood*. 2012, 29: 119(13):3003-15
33. Durie BGM, Harousseau JL, Miguel JS, Blade S, Barlogie B, Anderson K, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006, 20: 1467-1473.
 34. Sermin Özkal. Güncel Lenfoma Sınıflandırması, Classification of Lymphoma. *Türkiye Klinikleri J Hem Onc – Special Topics*. 2012, 5 (3): 1-8
 35. Türk Hematoloji Derneği. Follüküler Hodgkin Dışı Lenfoma Tanı ve Tedavi Kılavuzu. Ankara, Efil Yayınevi, 2012
 36. Türk Hematoloji Derneği. Mantle Hücreli Hodgkin Dışı Lenfoma Tanı ve Tedavi Kılavuzu. Ankara, Efil Yayınevi, 2012.
 37. Türk Hematoloji Derneği. Yaygın Büyük B Hücreli Hodgkin Dışı Lenfoma Tanı ve Tedavi Kılavuzu. Ankara, Efil Yayınevi, 2012.
 38. Koç H, Arslan Ö, Gürman G, Akan H, Özcan M, İlhan O, Aydoğdu İ, Arat M, Beksaç M, Konuk N, Uysal A. The use of high dose chemotherapy plus granulocyte colony stimulating factor for the salvage of refractory or resistant malignant lymphoma patients without stem cell support. *Acta Haematol*. 1997, 98: 136-139.
 39. Türk Hematoloji Derneği. Hodgkin Lenfoma Tanı ve Tedavi Kılavuzu. Ankara, Efil Yayınevi, 2012
 40. Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM, Goldman JM, Kersey J, Kolb HJ, et al. Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood*. 1990, 75 (3): 555-562
 41. Ting SB, Deneault E, Hope K, Cellot S, Chagraoui J, Mayotte N, et al. Asymmetric segregation and self-renewal of hematopoietic stem and progenitor cells with endocytic Ap2a2. *Blood*. 2012, 119(11): 2510-22.
 42. Trumpp A, Essers M, Wilson A. Awakening dormant haematopoietic stem cells. *Nat Rev Immunol*. 2010, 10 (3): 201-9
 43. Motabi IH, DiPersio JF. Advances in stem cell mobilization. *Blood Rev*. 2012, 26(6): 267-78
 44. Kiel MJ, Yilmaz OH, Iwashita T, Yilmaz OH, Terhorst C, Morrison SJ. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells. *Cell*. 2005, 121(7):1109-1121.

45. Wilson A, Laurenti E, Oser G, et al. Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair. *Cell*. 2008,135(6):1118-1129.
46. To LB, Levesque JP, Herbert KE. How I treat patients who mobilize hematopoietic stem cells poorly. *Blood*. 2011, 27;118(17):4530-40.
47. Tzeng Y-S, Li H, Kang Y-L, Chen W-C, Cheng W-C, Lai D-M. Loss of Cxcl12/Sdf-1 in adult mice decreases the quiescent state of hematopoietic stem/progenitor cells and alters the pattern of hematopoietic regeneration after myelosuppression. *Blood*. 2011, 117(2):429-439.
48. Mendez-Ferrer S, Michurina TV, Ferraro F, Mazloom AR, MacArthur BD, Lira SA, et al. Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature*. 2010, 466(7308): 829-34.
49. Ehninger A, Trumpp A. The bone marrow stem cell niche grows up: mesenchymal stem cells and macrophages move in. *J Exp Med* March. 2011, 208(3):421-8.
50. Chow A, Lucas D, Hidalgo A, Mendez-Ferrer S, Hashimoto D, Scheiermann C, et al. Bone marrow CD169+ macrophages promote the retention of hematopoietic stem and progenitor cells in the mesenchymal stem cell niche. *J Exp Med*. 2011, 208(2):261-71.
51. Assmus B, Iwasaki M, Schachinger V, Roexe T, Koyanagi M, Iekushi K, et al. Acute myocardial infarction activates progenitor cells and increases Wnt signalling in the bone marrow. *Eur Heart J*. 2011, 33(15): 1911-9.
52. Tjwa M, Janssens S, Carmeliet P. Plasmintherapy enhances mobilization of HPCs after G-CSF. *Blood*. 2008, 112(10): 4048-405
53. Gürman G, Dilek İ, Arslan Ö, Arat M, Beksaç M, İlhan O, Özcan M, Akan H, Dalva K, Konuk N, Uysal A, Koç H. The effect of G-CSF on lymphocyte subsets and CD34+ cells in allogeneic stem cell transplantation. *Trans Sci*. 2011, 24: 23-28
54. Lee HM, Wu W, Wysoczynski M, et al. Impaired mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells in C5-deficient mice supports the pivotal involvement of innate immunity in this process and reveals novel promobilization effects of granulocytes. *Leukemia*. 2009, 23(11): 2052-2062.
55. Ratajczak MZ, Lee H, Wysoczynski M, et al. Novel insight into stem cell mobilization-plasma sphingosine-1-phosphate is a major chemoattractant that directs the egress of hematopoietic stem progenitor cells from the bone marrow and its level

- in peripheral blood increases during mobilization due to activation of complement cascade/membrane attack complex. *Leukemia*. 2010, 24(5):976-985.
56. Lucas D, Battista M, Shi PA, Isola L, Frenette PS. Mobilized hematopoietic stem cell yield depends on species-specific circadian timing. *Cell Stem Cell*. 2008, 3(4):364-366.
 57. Katayama Y, Battista M, Kao WM, et al. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow. *Cell*. 2006;124(2):407-421.
 58. Dar A, Schajnovitz A, Lapid K, et al. Rapid mobilization of hematopoietic progenitors by AMD3100 and catecholamines is mediated by CXC-R4-dependent SDF-1 release from Bone marrow stromal cells. *Leukemia*. 2011, 25(8):1286-1296.
 59. Semerad CL, Christopher MJ, Liu F, et al. G-CSF potently inhibits osteoblast activity and CXCL12 mRNA expression in the bone marrow. *Blood*. 2005, 106(9):3020-3027.
 60. Bonig H, Wundes A, Chang KH, Lucas S, Papayannopoulou T. Increased numbers of circulating hematopoietic stem/progenitor cells are chronically maintained in patients treated with the CD49d blocking antibody natalizumab. *Blood*. 2008, 111(7):3439-3441.
 61. Ramirez P, Rettig MP, Uy GL, et al. BIO5192, a small molecule inhibitor of VLA-4, mobilizes hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood*. 2009, 114(7):1340-1343.
 62. Gianni AM, Siena S, Bregni M, Tarella C, Stern AC, Pileri A, et al. Granulocytemacrophage colony-stimulating factor to harvest circulating haemopoietic stem cells for autotransplantation. *Lancet*, 1989, 2(8663):580-5.
 63. Spitzer G, Adkins D, Mathews M, Velasquez W, Bowers C, Dunphy F, et al. Randomized comparison of G-CSF + GM-CSF vs G-CSF alone for mobilization of peripheral blood stem cells: effects on hematopoietic recovery after high-dose chemotherapy. *Bone Marrow Transplant Dec*. 1997;20(11):921-30.
 64. Ozcelik T, Topcuoglu P, Beksac M, Ozcan M, Arat M, Biyikli Z, et al. Mobilization of PBSCs with chemotherapy and recombinant human G-CSF: a randomized evaluation of early vs late administration of recombinant human G-CSF. *Bone Marrow Transplant*. 2009, 44(12):779-83.
 65. Kim S, Kim HJ, Park JS, Lee J, Chi HS, Park CJ, et al. Prospective randomized comparative observation of single- vs split-dose lenograstim to mobilize peripheral

- blood progenitor cells following chemotherapy in patients with multiple myeloma or non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol* Oct. 2005, 84(11):742-7.
66. Narayanasami U, Kanteti R, Morelli J, Klekar A, Al-Olama A, Keating C, et al. Randomized trial of filgrastim versus chemotherapy and filgrastim mobilization of hematopoietic progenitor cells for rescue in autologous transplantation. *Blood*. 2001, 98(7):2059-64.
 67. Devine SM, Flomenberg N, Vesole DH, Liesveld J, Weisdorf D, Badel K, et al. Rapid mobilization of CD34+ cells following administration of the CXC-R4 antagonist AMD3100 to patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2004, 22(6):1095-102.
 68. Fowler CJ, Dunn A, Hayes-Lattin B, Hansen K, Hansen L, Lanier K, et al. Rescue from failed growth factor and/or chemotherapy HSC mobilization with G-CSF and plerixafor (AMD3100): an institutional experience. *Bone Marrow Transplant*. 2009, 43(12):909-17.
 69. Stiff P, Micallef I, McCarthy P, Magalhaes-Silverman M, Weisdorf D, Territo M, et al. Treatment with plerixafor in non-Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma patients to increase the number of peripheral blood stem cells when given a mobilizing regimen of G-CSF: implications for the heavily pretreated patient. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009, 15(2):249-56.
 70. DiPersio JF, Micallef IN, Stiff PJ, Bolwell BJ, Maziarz RT, Jacobsen E, et al. Phase III prospective randomized double-blind placebo-controlled trial of plerixafor plus granulocyte colony-stimulating factor compared with placebo plus granulocyte colony-stimulating factor for autologous stem-cell mobilization and transplantation for patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 2009, 27(28):4767-73.
 71. DiPersio JF, Stadtmauer EA, Nademanee A, Micallef IN, Stiff PJ, Kaufman JL, et al. Plerixafor and G-CSF versus placebo and G-CSF to mobilize hematopoietic stem cells for autologous stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *Blood*. 2009; 113(23):5720-6.
 72. Brunner S, Zaruba MM, Huber B, David RM, Vallaster M, Assmann G et al. Parathyroid hormone effectively induces mobilization of progenitor cells without depletion of bone marrow. *Exp Hematol*. 2008, 36: 1157-1166.

73. 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: 838-843.
74. Zohren F, Toutzaris D, Klärner V, Hartung HP, Kieseier B, Haas R. The monoclonal anti-VLA-4 antibody natalizumab mobilizes CD34+ hematopoietic progenitor cells in humans. *Blood* 2008, 111: 3893-3895.
75. Bonig H, Watts KL, Chang KH, Kiem HP, Papayannopoulou T. Concurrent blockade of alpha4-integrin and CXCR4 in hematopoietic stem/progenitor cell mobilization. *Stem Cells* 2009, 27: 836-837.
76. Carlo-Stella C, Di Nicola M, Milani R, Guidetti A, Magni M, Milanese M et al. Use of recombinant human growth hormone (rhGH) plus recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) for the mobilization and collection of CD34+ cells in poor mobilizers. *Blood.* 2004, 103: 3287-3295.
77. Herbert KE, True S, McArthur G, Prince HM. Safety and efficacy of combining ATRA with G-CSF in HSPC mobilization; a pilot study in multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma patients. *Bone Marrow Transplant.* 2007, 40:801-803.
78. Yoon DH, Sohn BS, Jang G, et al. Higher infused CD34+ hematopoietic stem cell dose correlates with earlier lymphocyte recovery and better clinical outcome after autologous stem cell transplantation in non-Hodgkin's lymphoma. *Transfusion.* 2009, 49: 1890-1900.
79. Micallef IN, Apostolidis J, Rohatiner AZ, et al. Factors which predict unsuccessful mobilisation of peripheral blood progenitor cells following G-CSF alone in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Hematol J.* 2000, 1(6): 367-373.
80. Tournilhac O, Cazin B, Lepretre S, et al. Impact of frontline fludarabine and cyclophosphamide combined treatment on peripheral blood stem cell mobilization in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2004, 103(1): 363-365.
81. Kumar S, Giralt S, Stadtmauer EA, et al. Mobilization in myeloma revisited: IMWG consensus perspectives on stem cell collection following initial therapy with thalidomide-, lenalidomide-, or bortezomib-containing regimens. *Blood.* 2009, 114(9): 1729-1735.
82. Stiff PJ. Management strategies for the hard-to-mobilize patient. *Bone Marrow Transplant.* 1999, 23: S29-S33.

83. Mayack SR, Shadrach JL, Kim FS, Wagers AJ. Systemic signals regulate ageing and rejuvenation of blood stem cell niches. *Nature*. 2010, 463(7280): 495-500.
84. Richman CM, Weiner RS, Yankee RA. Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man. *Blood* 1976;47:1031-9.
85. Barlogie B, Alexanian R, Dicke KA, et al. Highdose chemoradiotherapy and autologous bone marrow transplantation for resistant multiple myeloma. *Blood* 1987;70:869-72.
86. McLeod BC, Szczepiorkowski ZM, Weinstein R, Winters JL. *Apheresis: Principles and Practice*, 3rd edition, Chapter 3, Bethesda, AABB Press, 2010
87. McLeod BC, Szczepiorkowski ZM, Weinstein R, Winters JL. *Apheresis: Principles and Practice*, 3rd edition, Chapter 24, Bethesda, AABB Press, 2010
88. McGovern JJ Jr, Russell PS, Atkins L, Webster EW. Treatment of terminal leukemic relapse by total body irradiation and intravenous infusion of stored autologous bone marrow obtained during remission. *N Engl J Med* 1959, 260: 675-83.
89. İlhan O, Üskent N, Arslan O, Arat M, Özkalemkaş F, ÖZtürk G, Kalayoğlu SB, ÖZet A, Tombuloğlu M, Arpacı F, Ovalı E, Anak S. On behalf of Turkish Apheresis Group National Survey of hemapheresis practice in Turkey (1998). *Trans Sci*. 2000, 22: 195-201.
90. Arat M, Arpacı F, Ertem M, Gürman G, for Turkish Transplant Registry. Turkish transplant registry: a comparative analysis of national activity with EBMT European Activity Survey. *Bone Marrow Transplant*. 2008, 42: 142-145
91. Palumbo A, Bringhen S, Petrucci MT, et al. Intermediate-dose melphalan improves survival of myeloma patients aged 50 to 70: results of a randomized controlled trial. *Blood* 2004,104:3052– 3057.
92. Femand JP, Katsahian S, Divine M, et al. High-dose therapy and autologous blood stem-cell transplantation compared with conventional treatment in myeloma patients aged 55 to 65 years: long-term results of a randomized control trial from the Group Myelome-Autogreffe. *J Clin Oncol* 2005, 23:9227–9233. 9.
93. Barlogie B, Kyle RA, Anderson KC, et al. Standard chemotherapy compared with high-dose chemoradiotherapy for multiple myeloma: final results of phase III US Intergroup Trial S9321. *J Clin Oncol* 2006,24:929–936.

94. Blade J, Rosinol L, Sureda A, et al. High-dose therapy intensification compared with continued standard chemotherapy in multiple myeloma patients responding to the initial chemotherapy: longterm results from a prospective randomized trial from the Spanish cooperative group PETHEMA. *Blood* 2005, 106:3755–3759.
95. Moreau P, Facon T, Attal M, et al. Comparison of 200 mg/m² melphalan and 8 Gy total body irradiation plus 140 mg/m² melphalan as conditioning regimens for peripheral blood stem cell transplantation in patients with newly diagnosed multiple myeloma: final analysis of the Intergroupe Francophone du Myélome 9502 randomized trial. *Blood* 2002, 99:731–735.
96. Gertz MA, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. Impact of age and serum creatinine value on outcome after autologous blood stem cell transplantation for patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* 2007, 39:605–611.
97. Kumar S, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. High-dose therapy and autologous stem cell transplantation for multiple myeloma poorly responsive to initial therapy. *Bone Marrow Transplant*. 2004, 34:161–167.
98. Tricot G, Jagannath S, Vesole DH, et al. Relapse of multiple myeloma after autologous transplantation: survival after salvage therapy. *Bone Marrow Transplant* 1995, 16:7–11.
99. Garban F, Attal M, Michallet M, et al. Prospective comparison of autologous stem cell transplantation followed by dose-reduced allograft (IFM99-03 trial) with tandem autologous stem cell transplantation (IFM99-04 trial) in high-risk de novo multiple myeloma. *Blood* 2006;107:3474–3480.
100. Linch DC, Winfield D, Goldstone AH, et al. Dose intensification with autologous bone marrow transplantation in relapsed and resistant Hodgkin's disease: results of a BNLI randomised trial. *Lancet*. 1993, 341: 1051-4.
101. McLeod BC, Szczepiorkowski ZM, Weinstein R, Winters JL. *Apheresis: Principles and Practice*, 3rd edition, Chapter 22, Bethesda, AABB Press, 2010
102. Whitby A, Whitby L, Fletcher M, Reilly JT, Sutherland DR, Keeney M, Barnett D. ISHAGE protocol: are we doing it correctly? *Cytometry B Clin Cytom*. 2012 Jan;82(1):9-17.
103. Topcuoglu P, Akcaglayan Soydan E, Ekiz F, Ayyildiz E, Dalva K, Ozcan M, Arslan O, Arat M, Ilhan O. How to calculate the quantity of CD34+ cells infused? A single

- center cohort study based on actual, ideal or adjusted ideal body weight. *Transfus Apher Sci.* 2007 Jun;36(3):275-80.
104. Russell N, Douglas K, Ho AD, Mohty M, Carlson K, Ossenkoppele GJ, Milone G, Pareja MO, Shaheen D, Willemsen A, Whitaker N, Chabannon C. Plerixafor and granulocyte colony-stimulating factor for first-line steady-state autologous peripheral blood stem cell mobilization in lymphoma and multiple myeloma: results of the prospective PREDICT trial. *Haematologica.* 2013 Feb;98(2):172-8.
105. Fu S, Liesveld J. Mobilization of hematopoietic stem cells. *Blood Rev.* 2000 Dec;14(4):205-18.
106. Bensinger W, DiPersio JF, McCarty JM. Improving stem cell mobilization strategies: future directions. *Bone Marrow Transplant.* 2009 Feb;43(3):181-95.
107. Weaver CH, Schwartzberg LS, Birch R, Greco FA, Rhinehart S, Hainsworth J, Beeker T, Price H, Geier L, Foster J, West J, Hazelton B, Buckner CD. Collection of peripheral blood progenitor cells after the administration of cyclophosphamide, etoposide, and granulocyte-colony-stimulating factor: an analysis of 497 patients. *Transfusion.* 1997 Sep;37(9):896-903
108. Lefrère F, Mauge L, Réa D, Ribeil JA, Dal Cortivo L, Brignier AC, Aoun C, Larghéro J, Cavazzana-Calvo M, Micléa JM. 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 Mar;53(3):564-9.
109. Maziarz RT, Nademanee AP, Micallef IN, Stiff PJ, Calandra G, Angell J, DiPersio JF, Bolwell BJ. Plerixafor plus granulocyte colony-stimulating factor improves the mobilization of hematopoietic stem cells in patients with non-Hodgkin lymphoma and low circulating peripheral blood CD34+ cells. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013 Apr;19(4):670-5.
110. Nademanee AP, DiPersio JF, Maziarz RT, Stadtmauer EA, Micallef IN, Stiff PJ, Hsu FJ, Bridger G, Bolwell BJ. Plerixafor plus granulocyte colony-stimulating factor versus placebo plus granulocyte colony-stimulating factor for mobilization of CD34(+) hematopoietic stem cells in patients with multiple myeloma and low peripheral blood CD34(+) cell count: results of a subset analysis of a randomized trial. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012 Oct;18(10):1564-72.

111. Milone G, Tripepi G, Martino M, Ancora F, Bartolozzi B, Spadaro A, Nozzoli C, La Fauci A, Amico I, Leotta S, Poidomani M, Irrera G, Iacopino P, Saccardi R, Guidi S, Bosi A. Early measurement of CD34+ cells in peripheral blood after cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor treatment predicts later CD34+ mobilisation failure and is a possible criterion for guiding "on demand" use of plerixafor. *Blood Transfus.* 2013 Jan;11(1):94-101.
112. Kozuka T, Ikeda K, Teshima T, Yoshida C, Shinagawa K, Kojima K, Matsuo K, Bessho A, Sunami K, Hiramatsu Y, Maeda Y, Noguchi T, Yamamoto K, Fujii N, Imai T, Kusumoto KK, Masuda K, Takenaka K, Ishimaru F, Niiya K, Koide N, Tanimoto M, Harada M. Peripheral blood circulating immature cell counts predict CD34+ cell yields in G-CSF-induced PBPC mobilization in healthy donors. *Transfusion.* 2004 Apr;44(4):526-32.
113. Micallef IN, Stiff PJ, Stadtmauer EA, Bolwell BJ, Nademanee AP, Maziarz RT, Partisano AM, Marulka S, Dipersio JF. Safety and efficacy of upfront plerixafor + G-CSF vs. Placebo + G-CSF for mobilization of CD34+ hematopoietic progenitor cells in patients ≥ 60 and < 60 years of age with Non-Hodgkin's lymphoma or multiple myeloma. *Am J Hematol.* 2013 Aug 1.
114. Alegre A. Optimal mobilization method and CD34+ dose calculation for autologous PBSC transplant in myeloma patients: two important unresolved questions. *Bone Marrow Transplant.* 2009 Apr;43(8):593-5.
115. Seggewiss R, Buss EC, Herrmann D, Goldschmidt H, Ho AD, Fruehauf S. Kinetics of peripheral blood stem cell mobilization following G-CSF-supported chemotherapy. *Stem Cells.* 2003;21(5):568-74.
116. Rinaldi C, Savignano C, Pasca S, Sperotto A, Patriarca F, Isola M, Fanin R, De Angelis V. Efficacy and safety of peripheral blood stem cell mobilization and collection: a single-center experience in 190 allogeneic donors. *Transfusion.* 2012 Nov;52(11):2387-94.
117. Yang SM, Chen H, Chen YH, Zhu HH, Zhao T, Liu KY. The more, the less: age and chemotherapy load are predictive of poor stem cell mobilization in patients with hematologic malignancies. *Chin Med J (Engl).* 2012 Feb;125(4):593-8.
118. Sancho JM, Morgades M, Grifols JR, Juncà J, Guardia R, Vives S, Ferrà C, Batlle M, Ester A, Gallardo D, Millà F, Feliu E, Ribera JM. Predictive factors for poor

- peripheral blood stem cell mobilization and peak CD34(+) cell count to guide pre-emptive or immediate rescue mobilization. *Cytotherapy*. 2012 Aug;14(7):823-9.
119. de la Rubia J, Bladé J, Lahuerta JJ, Ribera JM, Martínez R, Alegre A, García-Laraña J, Fernández P, Sureda A, de Arriba F, Carrera D, Besalduch J, García Boyero R, Palomera Bernal L, Hernández MT, García PR, Pérez-Calvo J, Alcalá A, Casado LF, San Miguel J. Effect of chemotherapy with alkylating agents on the yield of CD34+ cells in patients with multiple myeloma. Results of the Spanish Myeloma Group (GEM) Study. *Haematologica*. 2006 May;91(5):621-7
120. Rinn JP, Schwella N, Wollmer E, Jaques G, Heinzl-Gutenbrunner M, Strassmann G, Gross MW, Movassaghi K, Neubauer A, Ritter M. Local irradiation prior to stem cell harvest has no influence on CD34+ yield: a quantitative analysis. *Ann Hematol*. 2006 Jan;85(1):38-44.
121. Lacativa CP, Lacativa PG, Garnica M, Portugal RD, Schaffel R, Dutra Hdos S, Nogueira CM, Nucci M, Maiolino A. Risk factors for unsuccessful peripheral blood stem cell harvesting using granulocyte-colony stimulating factor mobilization in patients with multiple myeloma. *Transfus Apher Sci*. 2012 Dec;47(3):331-5.
122. Calvet L, Cabrespine A, Boiret-Dupré N, Merlin E, Paillard C, Berger M, Bay JO, Tournilhac O, Halle P. Hematologic, immunologic reconstitution, and outcome of 342 autologous peripheral blood stem cell transplantations after cryopreservation in a -80°C mechanical freezer and preserved less than 6 months. *Transfusion*. 2013 Mar;53(3):570-8.
123. Ilhan O, Arslan O, Arat M, Beksac M, Akan H, Ozcan M, Gurman G, Konuk N, Uysal A, Koc H. The impact of the CD34+ cell dose on engraftment in allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Transfus Sci*. 1999 Feb;20(1):69-71.