

Haploidantik Transplantasyon (HİT)

Dr. Duygu UÇKAN

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Hematoloji Ünitesi

Giriş

Kemik iliği transplantasyonu (KİT) veya daha genel anlamda, hematopoetik kök hücre nakli (HKHN); morbidite ve mortalitesi yüksek bir işlem-dir. Donör seçimi, başarıyı etkileyen en önemli faktörlerden biridir. En ideal donör hasta ile genotipik idantik olan HLA-6/6 uyumlu kardeşidir. Ancak, KİT ihtiyacı olan hastaların sadece %30'una, gelişmiş ülkelerde ise kardeş sayısının az olmasına bağlı daha azına ideal verici bulunmaktadır. Nadir hallerde aile içinden kardeş olmayan ancak HLA-uyumlu diğer bireylerin bulunması durumunda da KİT mümkündür (fenotipik idantik). Kardeş olmayan aile bireylerinin HLA 10/10 uyum göstermesi durumu da HLA-uyumlu kardeş donör gibi ideal (genotipik idantik) sayılmaktadır.

Doku grubu uygun kardeş veya aile bireyi bulunmayan hastaların tedavisi için diğer bir alternatif, doku bankalarının temin edilen HLA-uyumlu akraba-dışı bireylerden toplanan hematopoetik kök hücrelerin (HKH) veya bankalarda saklanan kordon kanının hematopoetik kök hücre kaynağı olarak kullanımıdır. Ancak bu yolla doku grubu uygun donör bulma şansı az olup (%30-60) bu ihtimal özellikle bazı ırk veya etnik gruplara mensup hastalarda çok daha düşüktür (%10). Bankalardan donör arama işlemleri, ve sonrasında donör hazırlık işlemlerinin uzun zaman almasından dolayı transplant ihtiyacı olan birçok hastada hastalık ilerlemekte, relaps gelişmekte ve hastalar KİT sonuçları yönünden prognozunu iyi olduğu erken safhalar yerine başarı şansının düşük olduğu ileri safhalarda alınabilmektedir. Bu nedenle, aile içinde HLA-uygun olmayan bireylerden haploi-

danitik transplantasyon yapılması her zaman çekici bir yaklaşım olarak düşünülmüş; ancak yakın zamanlara kadar bu tip transplantlara (ağır kombine immün yetmezlikli hastalar dışında) yüksek morbidite/mortalite riski nedeniyle genellikle son çare olarak başvurulmuş; belki de bu nedenle işlemin mortalitesi kabul edilemeyecek kadar yüksek düzeylere çıkmıştır. Oysa her kişinin anne ve babasıyla haploidantik olduğu (en azından 3/6 HLA uyumu) göz önünde bulundurulduğunda, işlemin risklerinin azaltılabildiği halinde, HKHN gereken hemen her hasta için donör bulma imkanı sağlanmış olacaktır. Bu nedenle aile bireylerinden haploidantik transplantasyonun cazip bir tedavi şekli olma potansiyeli mevcuttur. Yakın zamanlarda geliştirilen protokoller ve hücresel tedavi/hücre manipülasyonu yöntemlerinin geliştirilmesi sayesinde işlemin morbidite/mortalitesinde önemli oranda azalma ile birlikte başarılı sonuçlar elde edilmeye başlanmıştır.

Genel bilgi

Ağır kombine immün yetmezlikli çocuklarda aile içi uygun donör bulunamayan hallerde anne veya babadan haploidantik transplantasyon işlemi yaklaşık 20 yıldır başarı ile kullanılmakta ise de diğer hastalıklarda kullanımındaki yüksek morbidite/mortalite oranları nedeniyle yakın zamanlara kadar bu tedavi yaklaşımı donör bulunamayan hastalarda bir alternatif olarak düşünülmemekte; bir bakıma deneysel kabul edilmekte idi.

Haploidantik transplantasyon (HİT) hasta ile donör arasında 2-3 HLA lokusunda uyumsuzluk bulunması durumu olup aile bireyleri, genellikle

de anne veya babadan yapılmaktadır. Majör histokompatibilite kompleksinde (HLA) birkaç class I ve II molekülünün birden uyumsuzluğu söz konusu olduğundan şiddetli greft rejeksiyonu veya greft versus host (GVH) olasılığı mevcuttur. Buna karşılık doku bankaları yoluyla temin edilen akraba dışı-HLA-uyumlu bireylerden olan transplantlarla karşılaştırıldığında bazı avantajları da mevcuttur.

Haploidantik transplantasyonun avantajları başlıca:

- *Donör bulma kolaylığı:* Aile içinden olması nedeniyle kolayca ve hızlı bir şekilde donör bulunabilmektedir. Hemen herkes için haploidantik bir donör bulma şansı mevcuttur. Ayrıca yaş, cinsiyet, parite, enfeksiyon hikayesine göre donör seçilebilmesi mümkün. Gereken hallerde aileden ikinci bir donör bulma şansı da mevcuttur. Donörlerin tam incelenmesi yapılabilir. Gereklikçe donörden hücre toplanarak immünoterapi imkanı mevcuttur.

- *Ekonomik boyut:* Bankalardan donör tarama işlemlerinde olduğu gibi tekrar tekrar ve ek HLA tiplendirmesi gerekmez; banka kayıt, saklama, transport vs ek masraflara ihtiyaç yoktur, greft temini yönünden HLA idantik kardeş transplantlarına benzer.

- *Ürün hazırlığı:* Greftte manipulasyon yapabilme kolaylığı mevcut olup gereğinde volüm ayarlayabilme şansı mevcuttur.

Haploidantik transplantasyonda klasik olarak karşılaşılan temel klinik sorunlar ise:

1. Greft versus host hastalığı (GVHH); ve
2. Greft reddidir (GR).

Ayrıca greft rejeksiyonunu önlemek amacıyla verilen yoğun immunosupresif ve myeloablatif rejimler de enfeksiyon ve toksisite riskini artırarak yüksek morbidite/mortaliteye yol açmaktadır.

Greft manipulasyonu yapılmadan uygulanan HİT'da GVHH riski %90'lara kadar çıkabilmekte, buna karşılık GVHH riskini azaltmak amacıyla uygulanan greftten T-lenfosit arındırma (T-depleksiyonu) işlemi GVHH riskini önemli oranda suprese etmekle beraber donör hücrelerinin engraftman şansını da azaltarak greft rejeksiyonuna yol açmakta, ayrıca enfeksiyon, relaps riskini artırmaktadır. Bu nedenlerle GVHH önlemek amacıyla uygulamaya konulan kök hücre ürününden T-

lenfositlerin uzaklaştırılma işlemi HİT sorunlarını çözmede yetersiz kalmıştır. Bu konu ile ilgili en önemli adım 1980'lerde Reissner'in fare deneylerinde T lenfosit depleksiyonu ile birlikte megadozlarda CD34+ hücre (kök hücre ve progenitör hücre) kullanımını gündeme getirmesiyle atılmıştır. Çok yüksek dozlarda verilen ve T hücrenden arındırılmış kök hücreler sayesinde hem GVHH önlenebilmiş, hem de başarılı engraftman sağlanması gerçekleşmiştir. Daha sonra 1990'larda İtalya'dan Perugia grubu ile ortak çalışmalarında klinik uygulamaya geçilmiş; donörlere hematopoetik büyüme faktörleri verilerek çok sayıda kök hücre (CD34+) elde edilerek bu işlem T-depleksiyonu ile birleştirilerek (megadozda kök hücre ve çok az T- lenfosit) HİT'da başarı oranında artma sağlanmış. Son yıllarda ise megadoz CD34+ hücrelere; kök hücre ürününün manipulasyonu ile hücre tedavilerin eklenmesi ile HİT alanında önemli gelişmeler elde edilmiştir.

HİT sorunlarına yönelik deneysel ve klinik yaklaşımlar ve önemli gelişmeler

HİT'lardaki iki ana sorunun (GVHH,GR) çözülmesine yönelik yaklaşımlardan bazıları özetlenecek olursa:

1. *T-lenfosit depleksiyonu:* Greftteki T lenfositlerin soybean-lectin/ E-rozet veya elutriasyon yöntemleriyle negatif seleksiyonu. (Son yıllarda CD34+ hücrelerin pozitif seleksiyonu ile greftin T-lenfositlerden arındırılması daha yaygın kullanılmaya başlanmıştır).

HKH ürününde bulunan T lenfositler GVHH'nın efektör hücreleridir. Bu hücreler ex-vivo ortamda ayrılarak üründen uzaklaştırıldığı takdirde GVHH önlenabilmektedir. Greftteki T lenfositlerin uzaklaştırılması ise diğer ciddi komplikasyonların gelişimine yol açmaktadır. GVHH efektör hücreleri olmanın yanında donör T lenfositlerinin diğer önemli işlevleri; hastada hazırlama rejimi sonrasında kalan lenfohematopetik hücrelerin eradikasyonu sayesinde engraftmanı sağlamak; kalan malign hücrelerin öldürülmesine katkıda bulunarak relapsı önlemek (greft versus lösemi-GVL) ve KİT sonrası enfeksiyonlardan korunma sağlamaktır. Greftten T-depleksiyonu yapıldığı takdirde T lenfositlerin bu yararlı etkilerinin kaybına bağlı kemik iliği engraftmanı zorlaşmakta, greft reddi/rejeksiyon riski artmakta; T ve B lenfo-

sit immün rekonstitüsyonu gecikmesine bağlı enfeksiyon ve lenfoproliferatif hastalık gelişme insidansı artmakta, ve hastalık relapsı görülebilmektedir. Bu nedenlerle GVHH önlemek amacıyla kök hücre ürününden T-lenfositlerin uzaklaştırılması HİT sorunlarını çözmede yetersiz kalmıştır.

2. *Parsiyel T deplesyonu*: Donör kemik iliğinden monoklonal antikorlarla ex-vivo parsiyel T-hücre deplesyonu ile birlikte hastada in-vivo T-hücre deplesyonu.

Bu uygulamalarla çocuk hastalarda HİT'nun önemli sorunları olan GVHH ve GR önemli oranda önlenebilmişse de uzun süreli yaşam oranları ancak %35'lere çıkarılabilmektedir.

3. *KİT öncesi hazırlık rejiminin modifikasyonu*:

- İmmüsupresyonun güçlendirilmesi: Hazırlık rejimine total vücut ışınlaması veya selektif anti-T lenfosit ajanları eklenerek rejeksiyonun önlenmesi (rejeksiyondan sorumlu olan anti-donör CTLp-sitotoksik T lenfosit prekürsörleri- supresyonu sağlanarak).

Önemli gelişme 1995'te hazırlık rejiminde siklofosamid yerine fludarabin kullanımı ile non-hematolojik toksisitede azalmanın sağlanması ile sağlanmıştır.

- Myeloablative ilaçlar (Thiotepa/busulfan) kullanımı.

Bu yaklaşımlara rağmen T-lenfosit deplesyonu yapılarak HİT yapılan lösemili hastalarda engraftman yetersizliği gözlenebilmektedir.

4. *Megadoz kök hücreler*: Doku uyumsuzluğu olan fare transplantlarında 1980'li yıllarda, yüksek dozlarda kök hücre verilerek ve T-deplesyonu yapılarak başarılı engraftman sağlanması (Reissner).

HİT konusunda klinikte önemli gelişmeler ise 1990'lı yıllarda elde edilmiş:

- Megadozda HKH'lerin klinikte kullanımı: HİT'da T-deplesyonu yanında hematopoetik büyüme faktörleri kullanılarak elde edilen kök hücre miktarlarının artırılması ile histoinkompatibilite bariyerlerinin aşılması (Weizman ve Perugia ekibi). Bu amaçla kemik iliği hücreleri yanında mobilize periferik kan kök hücrelerinin kullanımı.

Bu yöntem, T-lenfosit deplesyonu yapılması dolayısıyla GVHH riskinin azaltılarak hastalarda post-transplant immüsupresyon gereğinin ortadan kalkması, yüksek dozlarda verilen kök hücrelerin veto etkisinin de katkısıyla engraftmanın sağlanması esasına dayandırılmıştır. Çok sayıda CD34+ hücre verilerek major ve minör HLA bariyerleri aşılabilmektedir.

CD34+ hücrelerin veto etkisi, hastada donör antijenlerine karşı gelişmiş sitotoksik T lenfosit prekürsörlerinin apoptozisi yoluyla anti-donör sitotoksikite nötralize edilmesi anlamına gelmektedir. Megadozlarda pürifiye CD34+ hücrelerle host toleransı uyarılır; host CTL prekürsör aktivitesi inhibisyonuna bağlı graft rejeksiyonu riski azalır (Rachamim, Reissner).

1993'ten beri HİT'da megadoz yaklaşımı birçok merkezde başarıyla kullanılmaktadır. Bu merkezlerin önde gelenlerinden olan Perugia, Tuebingen ve Vienna verilerine göre, HİT sonuçları akraba-dışı donörlerden HLA-uyumlu transplant sonuçlarına benzer bulunmuştur.

Sonuçta, güçlü bir immüsupresif rejim verilip CD34 pozitif seleksiyonu ile çok sayıda kök hücre ve çok az T lenfosit verilmiş olduğundan GVHH riski azalmakta ve post-transplant immüsupresyona da gerek kalmamaktadır. CD34 lerin fazlalığı (10x10⁶/kg) sayesinde engraftman kolaylaşmakta ayrıca post transplant immüsupresyon da verilmediği için immün rekonstitüsyon hızlanmaktadır. Ayrıca megadozda kök hücre verildiği için engraftmanın sağlanması için total vücut ışınlaması gereği ortadan kalkmaktadır.

- Bu sonuçların elde edilmesinde greftte T lenfosit sayısının GVHH için belirlenen eşik değer olan <3x10⁴/kg'a indirilmesini ve megadozda CD34+ hücre toplanmasını mümkün kılan CD34 pozitif seleksiyon yönteminin geliştirilmesinin önemli katkıları olmuştur. Bu işlem için önceleri periferik kandan E-rozet ve CD34 pozitif seleksiyonunu birleştiren Ceprate sistemi kullanılmış; son yıllarda ise Clinimacs

sistemi ile manyetik boncuklarla işaretli CD34 antikörleri ile pozitif seleksiyon yöntemi yaygın ve etkili olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Özetle; bu gelişmeler sayesinde, HİT'larda;

- Toplanan kök hücre sayısının artmasıyla %94 oranında kalıcı engraftman sağlanması.
- T-lenfosit deplesyonu elde edilerek GVHH riskinin azalması.
- Post-transplant immunosupresyon gereğinin ortadan kalkması, mümkün olmuştur.

5. OKT3 ile pre- ve post-transplant immunosupresyon sağlanarak benzer başarılı sonuçların elde edilmesi (Handgretinger 1999).

6. *Natural killer (NK) hücrelerin rolü (donör NK infüzyonları):* Greftte bulunan donör 'natural killer' hücrelerinin engraftman elde edilmesindeki rolünün anlaşılması da HİT uygulamasında çok önemli gelişmeler sağlamıştır.

Haploidantik host antijenlerine karşı sensitize olmuş alloreaktif donör NK hücrelerinin engraftman sağlanmasında ve relapsların önlenmesinde rolü olduğu gösterilmiştir. GVHH'a yol açmadan hastanın lenfohematopetik sistemini lizise uğratması ile engraftmanın güçlenmesini sağlamak ve lösemik hücrelerin eradikasyonunda rol oynamaktadır.

HİT'larda bu amaçla donör NK hücre infüzyonları başarılı olarak kullanılmaya başlanmıştır. Antijenik bariyerlerin aşarak engraftmanın sağlanması ve lösemik hücre eradikasyonu (immunoterapi) amacıyla kullanımı son yıllarda bu alandaki önemli gelişmelerden biridir.

rIL-2 ile aktive edilmiş donör lenfosit ürününden CD56+ hücrelerin pozitif seleksiyonu rezistan hematolojik malignitelerde immunoterapi amacıyla kullanımı önerilmektedir. Böylelikle klasik donör lenfosit infüzyonlarında önemli sorun olan GVHH riskinin önüne geçilmiş olmaktadır. Yine HİT'da hafifletilmiş hazırlık rejimi kullanılarak ve donörlerden T-lenfosit deplesyonu ile megadoz CD34+ hücreler yanında CD56+ donör NK hücrelerinin de ürüne eklenmesi ile preliminer çalışmalarda başarılı ve hızlı engraftman olduğu bildirilmiştir. NK hücreleri MHC class I molekülleri için inhibitör olan KIR reseptörleri (Killer cell Ig-like receptors) tarafından regüle edilmektedir.

GVH yönünde KIR uyumsuzluğu olan bireyler arasında yapılan transplantasyonda NK alloreaktivitesine bağlı olarak relapsların az olduğu gösterilmiştir. Hasta ile donörün NK reseptörleri için inhibitör ligand rolü oynayan MHC moleküllerinde uygunsuz olması durumunda donör NK hücreleri hastanın hematopetik sistem hücrelerini eradike etmekte ancak GVHH'a yol açmamaktadır. Bu şekilde donör tarafından anti-host NK aktivitesi gelişmesi için inhibitör HLA allellerinin donörde olması ve hastada bulunmaması gerekmektedir.

NK hücrelerinin bu özelliği de hasta ve donör polimorfizmlerinin donör seçimi kriterleri arasına katılmasını gündeme getirmiş ve bazı merkezlerde doku grubu tayini yanında hasta/donör KIR polimorfizmleri bakılması da rutin tetkikler arasına katılmıştır.

7. *CD4+CD25+ Regulator T lenfositler (Treg):* Regulator T lenfositlerin; kostimulatör blokaj, IL-10 salınımı, T lenfositlerde anergi sağlayarak ve naive CD4+ T lenfositlerin alloreaktif cevabını önleyerek GVHH supresyonunda rol oynadıkları ve immunosupresif potansiyelleri gösterilmiştir. Özellikle HİT'larda alloantijen-spesifik tolerans gelişimini sağlayarak GVHH önlenmesinde etkili rol oynayabilecekleri konusunda çalışmalar vardır. Deneysel çalışmalarda donör T lenfositleri ile birlikte donör NK infüzyonlarında Treg'lerin GVHH önlemedeki etkinliği gösterilmiştir. Ancak bu hücreler kemik iliğinde çok az sayıda bulunduklarından ex vivo ekspansiyon ve tekrarlayan infüzyonlar yönünde araştırmalar yürütülmektedir. HİT için büyük önemi olabileceği düşünülmektedir.

8. *'Double veto' stratejisi:* Megadoz CD34+ hücreler veto etkisiyle host anti-donör sitotoksik prekürsör hücrelerini suprese etmekle engraftmanı güçlendirmektedir. Benzer şekilde donör CD8+veto hücrelerinin CD34+ hücrelerle beraber verilmesi ile 'double veto' etkisi elde edilerek alloreaktif host hücrelerinin donör hücrelerini rejeke etmesinin önlenebileceği de gösterilmiştir.

9. *Kostimulasyon blokajı:* Donör alloreaktif T hücrelerinin host hücrelerine karşı tolerize edilmesi amacıyla solubl CTLA-4-Ig veya anti B7.1 veya 2 kostimulasyon blokajı yapılarak GVHH oranında azalma olmuşsa da bu yaklaşım ile çocuk hastalarda GVHH ve GR'nun istenilen oranda önlenmesi mümkün olmamıştır.

10. *IL-10 ve TGF- β eşliğinde alloantijen spesifik immün cevapsızlık/tolerans geliştirilmesi*: Bu yöntemle de GVHH oluşturmada ve hastanın enfeksiyöz ve diğer ajanlara karşı direncini kırmadan alloantijenlere karşı tolerize edilerek rejeksiyonun önlenmesi amaçlanmıştır.

11. Minör histokompatibilite antijenleri HA1, HA2 ye karşı elde edilen sitotoksik T lenfositlerin lösemik hastalarda GVHH'a yol açmadan lösemi eradikasyonu amacıyla kullanımı da HİT yönünden önem taşımaktadır.

12. *Alloreaktif T lenfositten arındırma*: Donör lenfositlerinin hastaya ait ışınlanmış mononükleer hücreler ile ko-kültürü ve alloreaktif T lenfositlerin CD69 veya CD25 antikörleri ile (Dynal beads) ile seçilerek uzaklaştırıldıktan sonra pediatrik hastalara infüzyonu ($1-8 \times 10^5$ /kg) ile ağır GVHH gelişimi önlenmiştir.

13. *Mezenkimal kök hücre infüzyonları*: Megadozlarda CD34+hücre infüzyonuna rağmen HİT'larda engraftman yetersizlikleri görülmesi nedeniyle hematopoetik kök hücrelere (HKH) stroma desteği sağlayarak engraftmanı güçlendirmek amacıyla HKH ile birlikte mezankimal kök hücre verilmesi ileri sürülmüş ve bu konu ile ilgili çalışma başlatılmıştır (Leiden 2004). Bu hücrelerin engraftmanı güçlendirmenin yanında immunosupresif etkileri nedeniyle GVHH önlemede de etkili olabileceği düşünülmektedir. Donör kemik iliğinden elde edilen bu hücrelerin ex vivo ekspansiyonu uzun süren, ancak nadir laboratuvarlarda GMP koşullarında hazırlanması gereken işlem olduğundan rutin uygulanması zordur.

14. *T ve B lenfositlerin negatif seleksiyonu (anti CD19 ve IL-2)*: Bu yaklaşım da mobilize periferik kan kök hücre ürünlerinden geniş çapta T ve B lenfosit deplesyonu yapılarak greftte kök hücreler, projenitör hücreler, NK ve diğer hücrelerin bırakılmasına dayanır. Bu yaklaşımla, CD34 seleksiyonu ile üründen kaçan ancak engraftman için gerekebilecek diğer hücreler de greftte kalabileceği için HİT'ların temel sorunlarına çözüm getirebilme ihtimali yönünden ümit vericidir.

15. Antijen-spesifik donör T lenfositleri geliştirilerek anti-viral immünitenin güçlendirilmesi (ör. Adenovirus, CMV)

16. Host Langerhans hücrelerinin donör alloreaktif T hücrelerinin verilmesinden önce deplesyonu da ciltte GVHH önlenmesi amacıyla kullanılmıştır.

17. *Post-transplant rutin GCSF kullanımı na son verilmesi*: post-transplant kullanılan GCSF'in IL-10 salınımı yoluyla immunosupresyona yol açtığı; bu nedenle de özellikle HİT'larda immün rekonstitüsyonu geciktirdiği gösterildiği için HİT'da post-transplant rutin GCSF kullanımı önerilmemektedir. GCSF özellikle HİT'da immün rekonstitüsyonu olumsuz etkilemektedir.

18. *Keratinosit growth factor (KGF) kullanımı*: KGF ün timik epitel hücreleri irradiasyon hasarından koruması hem immün rekonstitüsyonu hızlandırmakta hem de GVHH'ı önlemektedir. Bu nedenle HİT'larda kullanımı ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

HİT'da immün rekonstitüsyon

T-lenfositten arındırılmış HİT sonrası immün rekonstitüsyonun HLA-uyumlu kardeş transplantlarına göre geciktiği bilinmektedir. Erken dönemde NK hücre sayısında artış gözlenmekte, T ve B lenfosit rekonstitüsyonunda gecikme (ortalama +92. günde >100 T hücre/ul) ve viral (adenovirus, CMV, HHV-6), fungal (aspergillus) enfeksiyonlarda artma bildirilmiştir.

Ağır kombine immün yetmezlikli hastalar ile diğer hastalar arasında rekonstitüsyonda farklılıklar vardır. İmmün yetmezlikli hastalarda HİT 'nın immün rekonstitüsyon üzerine etkileri detaylı incelenmiş, ancak lösemi ve diğer hastalıklarda bu konuda yeterince çalışma mevcut değildir. İmmün yetmezlikli hastalarda HİT (T deplesyonu ile) sonrası 2-3 ay periferde T lenfosit görülmediği; ilk görülen hücrelerin timosit karakterinde double + hücreler olduğu; PHA cevabının düzelmesinin ise yaklaşık 6 ayı bulduğu bilinmektedir. Antijen-spesifik cevapların ise 6 ayda normale döndüğü gösterilmiştir. Lösemi nedeniyle HİT yapılan hastalarda immün rekonstitüsyon yeterince incelenmemişse de T lenfosit gelişimi ve fonksiyonlarının düzelmesinde belirgin gecikmeler olduğu bilinmektedir. Megadozda verilen kök hücreler immün rekonstitüsyona katkıda bulunmakta, ancak post-transplant GCSF uygulamasının da immün yapılanmanın gecikmesinde rolü olduğu; IL-10 salınımı yoluyla TH-1 supresyonu

yaptığı gösterilmiştir. Erişkinlerde yaşın etkisi ile, ayrıca kemoradyoterapi, akut GVHH a bağlı hasar sonucu timik fonksiyonlarda yetersizliğe sıklıkla rastlanmaktadır. GVHH profilaksi ve tedavisi, T-depleasyonu nedeniyle T hücre sayısının ve repertuarının çok sınırlı olması, ATG kullanımı da immün rekonstitüsyonu geciktiren nedenlerdendir. Post-transplant rutin GCSF kullanımının kaldırılması ve timik epitel hücreleri radyoterapi hasarından koruduğu gösterilen keratinosit growth factor (KGF)'in HİT'de kullanımının immün rekonstitüsyon üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir.

Komplikasyonlar

HİT komplikasyonları genel olarak allojenik KİT komplikasyonlarına benzemekte ancak daha sıklıkla görülüp daha ağır seyretmektedir. Komplikasyonlar başlıca; greft yetersizliğine ve pansitopeniye bağlı problemler, GVHH, T-depleasyonu nedeniyle immün rekonstitüsyon gecikmesi sonucu enfeksiyon (özellikle fungal, viral enfeksiyon insidansında artış), lenfo-proliferatif hastalıklar ve relaps riskinin artması, engraftman sağlanması amacıyla verilen yoğun kemo/radyoterapi toksisitesidir.

HİT sonuçları; günümüzdeki ve gelecekteki durumu

1993'ten beri HİT'da megadoz yaklaşımı bazı merkezlerde başarıyla kullanılmaktadır. Ancak megadoz yaklaşımı graft rejeksiyonunu yenmede %100 etkili değildir. Perugia, Tuebingen ve Vienna'dan megadoz HİT sonuçları akraba-dışı donörlerden HLA-uyumlu transplant sonuçlarına benzer bulunmuştur.

Akut lösemili yüksek riskli hastalarda HİT sonuçlarının değerlendirilmesinde prognoz açısından en önemli risk faktörünün transplantta hastalık durumu olduğu, komplet remisyonda transplant yapılan hastalarda relapsta olanlara kıyasla yaşam şansının çok daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca NK alloreaktivitesinin de prognostik önemi olduğu, özellikle lösemili hastalarda NK alloreaktif donörlerden yapılan HİT sonuçlarının anlamlı derecede iyi olduğu gösterilmiştir.

İmmün yetmezlikli hastaların dışında, 10 yıl öncesine kadar deneysel ve aşırı riskli kabul edilen HİT son yıllardaki gelişmelere bağlı olarak bugün için kabul edilebilir bir tedavi yöntemi

haline gelmiştir. Hematolojik malignitelerden çocuk ve erişkin hastalarda başlıca AML, ALL, MDS, JMML, lenfoma, ayrıca histiositoz, aplastik anemi, Fanconi aplastik anemisi, immün yetmezlik, talasemi, osteopetrozis ve diğer metabolik hastalıklarda engraftman oranları (1 veya >1 kök hücre infüzyonu ile) günümüzde %90'lara çıkarılmıştır. GVHH ise çok önemli bir sorun olmaktan çıkarak daha çok donör lenfosit infüzyonları sonrası görülmektedir. Uzun süreli yaşam oranının %20 ile %70 arasında olduğu ve bunun hastalık tanısı ve safhasına göre değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. Metabolik hastalıklarda ve komplet remisyonda lösemilerde bu oran yüksek iken ilerlemiş hastalık evrelerinde düşük bulunmuştur. HİT'da transplanta bağlı mortalite oranının %20-30 olduğu ve en sık ölüm nedenleri arasında enfeksiyon ve relapsların olduğu gösterilmiştir. Ölen hastaların 1/3'ünde viral veya fungal enfeksiyonlar sorumlu tutulurken relapslar hastaların yarısında ve özellikle ilerlemiş hastalık nedeniyle transplant yapılan hastalarda yüksek oranda bulunmuştur. Genel olarak bu sonuçlar HLA-uygun akraba dışı bireylerden yapılan HKHN sonuçları ile benzer olup HİT'larda son yıllardaki uygulamalara bağlı gelişmeleri yansıtmaktadır. Kök hücre ürününün manipülasyonu, ex-vivo ekspansiyon yöntemlerinin geliştirilmesiyle birlikte hücresel tedavilere bağlı olarak HİT sonuçlarının daha iyi olacağı ümit edilmektedir.

Özet/Sonuç

Son yıllardaki olumlu gelişmelere rağmen halen HİT yüksek riskli bir işlem kabul edilmektedir. Megadoz yaklaşımı çok etkili olmakla beraber graft rejeksiyonunu yenmede %100 etkili değildir. HİT'da sorunların aşılması ve rutin uygulamaya geçilmesiyle HKHN ihtiyacı olan hemen herkese donör bulma şansı mümkün olabilecektir. Bu nedenle bu tedavi yöntemindeki problemlere yönelik çalışmalarla hedeflenenler:

- Kalıcı engraftman sağlanması
- GVHH önlenmesi
- Virüsler ve diğer enfeksiyöz ajanlara karşı immünitinin sağlanması
- Antilösemik etkinin (GVL etkisi) temini, relapsların önlenmesi ve
- Hazırlık rejimlerinin toksisitelerinin azaltılmasıdır.

Bu hedeflere ulaşılması yönünde atılmış en önemli adımlar ve kuvvetle önerilen yaklaşımlar;

- Megadoz CD34+ hücre ve çok az sayıda T lenfosit verilmesi ($<3 \times 10^4/\text{kg}$)
- Donör NK infüzyonları (ör. lösemik hastada) ve donör olarak GVH yönünde KIR uyumsuz bireylerin seçilmesi
- Greftin alloreaktif T lenfositlerden arındırılması (CD69, CD25 dnyal)
- Geniş çaplı T ve B lenfosit deplesyonu
- Mezenkimal kök hücre infüzyonu
- Komplet donör kimerizmi elde edilmesi için gereğinde donör lenfosit infüzyonları
- Regulator T lenfositlerin ekspansiyonu ve verilmesi
- Post-transplant immünsupresyonun kaldırılması
- GCSF uygulamasının kaldırılması
- Keratinosit growth faktör kullanımı
- Hazırlık rejimlerinde fludarabin kullanımı ve radyoterapi doz azaltılması (veya önlenmesi)
- Özellikle mantar ve viral enfeksiyon tarama testleri ve antienfeksiyöz profilaktik, pre-emptif ve terapötik yaklaşımların zamanında uygulanması
- Antijen-spesifik donör T lenfositleri elde ederek adenovirus, CMV bağışıklığı sağlanması
- Yeni transplant protokolleri geliştirilmesi, olarak özetlenebilir.

Kaynaklar:

1. Aversa F, Velardi A, Tabilio A, reissner Y, martelli MF. Haploidentical stem cell transplantation in leukemia. *Blood Reviews* 2001;15:111-9.
2. Bachar-Lustig E, Rachamim N, Li HW et al. Megadose of T cell-depleted bone marrow overcomes MHC barriers in sublethally irradiated mice. *Nature Med* 1995;1:1268-73.
3. Barfield RC, Otto M, Houston J et al. A one-step large scale method for T- and B-cell depletion of mobilized PBSC for allogeneic transplantation. *Cytotherapy* 2004;6(1):1-6.
4. Handgretinger R, Lang P, Schumm M et al. Immunological aspects of haploidentical SCT in children. *Annals of New York Academy Sciences* 2001; 938: 340-57.
5. Henslee-Downey P, Abhyankar S, Parrish H et al. Use of partially mismatched related donors extends access to allogeneic marrow transplant. *Blood* 1987;69:3864-72.
6. Ho VT, Soiffer RJ. The history and future of T-cell depletion as graft versus host disease prophylaxis for allogeneic HSCT. *Blood* 2001;98:3192-3204.
7. Gale RP, Reissner Y. Graft rejection and graft-versus-host-disease: mirror images. *Lancet* 1986;1:468-70.
8. Guinan E; Boussiotis V, Neuberg D et al. Transplantation of anergic histoincompatible bone marrow allografts. *N England J Med* 1999;340:1704-14.
9. Gur H, Krauthgamer R, Berebi A et al. Tolerance induction by megadose hematopoietic progenitor cells: expansion of veto cells by short-term culture of purified human CD34+ cells. *Blood* 2002;99(11): 4174-81.
10. Lang P, Handgretinger R, Niethammer D et al. Transplantation of highly purified CD34+ progenitor cells from unrelated donors in pediatric leukemia. *Blood* 2003; 101:1630-6.
11. Leung W, Iyengar R, Tuener V et al. Determinants of antileukemia effects of allogeneic NK cells. *J Immunol* 2004;172(1):644-50.
12. Martelli MF, Reissner Y. Haploidentical megadose CD34+ cell transplants for patients with acute leukemia. *Leukemia* 2002;16(3):404-5.
13. Rachamim N, Gan J, Segall J...and Reissner Y. Tolerance induction by megadose hematopoietic transplants: donor type human CD34 stem cells induce potent specific reduction of host anti-donor cytotoxic T lymphocyte precursors in mixed lymphocyte culture. *Transplantation* 1998; 65:1386-93.
14. Reissner Y and martelli MF. Stem cell escalation enables HLA-disparate hematopoietic transplants in leukemic patients. *Immunology Today*. 1999;8: 343-7.
15. Sasazuki T, Juji T, Morishima J et al. Effect of matching of class I HLA alleles on clinical outcome after transplantation of hematopoietic stem cells from an unrelated donor. *New England J Med* 1998;339: 1177-85.
16. Schevach EM. CD4+CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *nat Rev Immunol* 2002;2: 389-400.
17. Velardi A, Ruggeri L, Capanni M et al. Impact of NK cell alloreactivity on mismatched hematopoietic transplantation. 2003 ASH meeting abstract. 527.