

# Engrafman, Tanımı ve Belirlenmesi, Kimerizm Tayini

Mutlu Arat

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Kök Hücre Nakli Ünitesi

Engrafman sağlanması 70-90'lı yıllar arasında transplant hekimlerinin erken graft fonksiyonu değerlendirmesinde gösterge görevini üstlenmiştir. Son 15 yılda akraba dışı verici artışı ve T lenfositlen arındırılmış nakil işlemleri sonrası izlenen artmış graft kayıpları daha sensitif yöntemler ile graft fonksiyonunun değerlendirilmesini gerektirmiştir. Kimerizm analizleri ablatif olmayan (NMA) veya azaltılmış yoğunlukta hazırlama (RIC) rejimleri sonrası daha sık ve hassas yöntemlerle takip edilmesi gereken olmazsa olmaz bir transplant verisi haline gelmiştir. Mikst kimerizm kavramı artık non-malin hematolojik hastalıkların ve oto-immun hastalıkların tedavisinde yeni bir çığır açmıştır. On yıl öncesinde 45 yaşa kadar olan transplant yaş sınırı yetmişlere kadar taşınmış ve bir engel olmaksızın çıkmıştır (Şekil 1). Bu metin temel kavramları, uluslararası verileri ve kendi merkezimiz deneyim ve laboratuvar sonuç, ve örneklerini kapsamaktadır.

**1. Engrafman:** Hazırlık rejimini takip eden aplazi sonrası hücre serilerinin tekrar ortaya çıkarak tam kan tablosunun düzelmesi durumu transplant hekimleri tarafından "engrafman", verilen lenfopoetik hücrelerin konakçıda yerleşmesi olarak tanımlanır. Klinik çalışmalarda standardizasyon sağlanması amacı ile engrafman kriterleri konusunda genel bir görüş birliği sağlanmıştır.

*a. Seri özgü engrafman kriterleri ve büyük serilere ait değerler*

i. Nötrofil: Ardışık 3 gün boyunca desteksiz mutlak nötrofil sayısının (MNS) > 0,5x10e9/L veya 1x10e9/L olduğu ilk gün

ii. Trombosit: Ardışık 3 gün boyunca desteksiz trombositlerin > 20x10e9/L veya 50x10e9/L oldu-

ğu ilk gün

iii. Lenfoid: İmmun yeniden yapılanmada anlatılmaktadır.

*b. Engrafman Sendromu:* Otolog veya allojeneik HHN sonrası hızlı engrafman ile birlikte ortaya çıkan, non-infeksiyöz ateş, ciltte döküntü, kapiller kaçak ve Pulmoner infiltrasyon ile karakterize pulmoner yetmezlik veya multi organ yetmezliği nedeni ile ölümcül potansiyeli olabilecek bir sendromdur. Eski yayınlarda bildirim fazla olmakla (1) birlikte (%79) yeni yayınlarda görece (%25) azalmıştır (2).

*c. Engrafman kinetikleri:*

i. Etki eden faktörler:

1. Hazırlık rejimi: Ablatif olan rejimlerde olmayanlara ve indirgenmiş dozda olanlara göre belirgin olarak engrafman süresi uzamaktadır.

2. GvHH profilaksisi: Özellikle uzun süreli Mtx (+11 ve +21) kullanılmasına bağlı nötrofil engrafmanının uzadığı bilinmektedir (3).

3. Antimikrobiyal profilaksi: Kinolon profilaksisi altında engrafman, olası anti-TNF etkisinden hızlanırken, TMP-SMX altında uzama göstermektedir (3).

4. Kemik iliği stromal yapısı: Fibrozisli olgularda teorik olarak uzamış engrafman beklenirken yapılan çalışmalarda bu durum kanıtlanmamıştır (3).

5. Kök hücre kaynağı: Periferik kök hücre (PKH) ile kemik iliğine (Kİ) göre belirgin olarak daha hızlı nötrofil (MNS>500 2-6 gün daha kısa) ve trombosit engrafmanı (Tromb>20 5-8 gün daha erken) izlenmektedir (4). Allo PKH nakli sonrası geç dönem engrafman kaybı hemen hemen hiç izlenmez (5). Miflin ve ark. kimerizm değerlendirilmesinde PKH ile Kİ arasında en fazla birinci ayda olmak üzere, 6.

**Tablo 1.** Kimerizm değerlendirilmesinde kullanılan yöntemler ve özellikleri (10)

Değerlendirme Yöntemi / Belirleyici	Ortalama sensitivite (%)	Kantitatif doğruluk	Yorum
<b>Eski Yöntemler (11)</b>			
Eritrosit antijenleri	0,1-0,5	Orta	Teknik olarak kolay, %75 iki yönlü bilgilendirici, eritrosit yaşam süresi uzun; nakil önce ve sonrası transfuzyonlardan etkileniyor
İzocenzimler (eritrosit)	10-30	Orta	Teknik olarak orta zorlukta, %95 iki yönlü bilgilendirici. Erit. Antijenine benzer etkilenme profili var.
İmmünglobulin haplotipleri	2-5	Orta	Teknik olarak zor, %50 iki yönlü bilgilendirici.
<b>Cinsiyet Uyumsuz (10)</b>			
Sitogenetik	10	Düşük	Yorucu, uzun süreç, teknik olarak zor
<b>FISH</b>			
Y kromozom belirleyici	2,5	Yüksek	Kısa süreç, hızlı değerlendirme
Eş zamanlı X/Y belirleyici (12-14)	1,5 (n=200) 0,3-0,6 (n=500) 0,1 (n=3000)	Semikantitatif	
PCR ile amelogenin geni tayini	0,0001	Yüksek	
PCR-SRY geni tayini (15)	0,00001	Yüksek	
<b>Cinsiyet Uyumlu (10)</b>			
RFLP	1-10	Semikantitatif	Yorucu, uzun süreç, teknik olarak zor
PCR STR/VNTR	1-5	Semikantitatif	Hızlı, teknik olarak kolay
Multiplex PCR STR (9)	1-3	Yüksek	9 STR belirleyici amplifiye edilir
Multiplex PCR FACS ile sort edilmiş hücresel alt tip (16)	0,001—0,01	Yüksek	Örn: CD34+ hücreler, T lenfositler, lösemi fenotipine göre sınıflandırma
Real-time PCR ile hastaya özgü SNP analizi (17,18)	0,1-0,6	Yüksek	Multiplex PCR STR'dan daha üstün

ayda ve takip eden ilk bir yıllık değerlendirmede istatistik olarak farklı MC olduğunu izlemişler ve her zaman PKH avantajı olduğunu bildirmişlerdir (6).

6. Kök hücre içeriği, CD34 miktarı: CD34 miktarı arttıkça nötrofil ve trombosit toparlanma süreleri kısalmaktadır (7)

7. Nakil sonrası büyüme faktörü (G-CSF) kullanımı: Nakil sonrası büyüme faktörü ile hematopoietik toparlanma hızlanmaktadır (8).

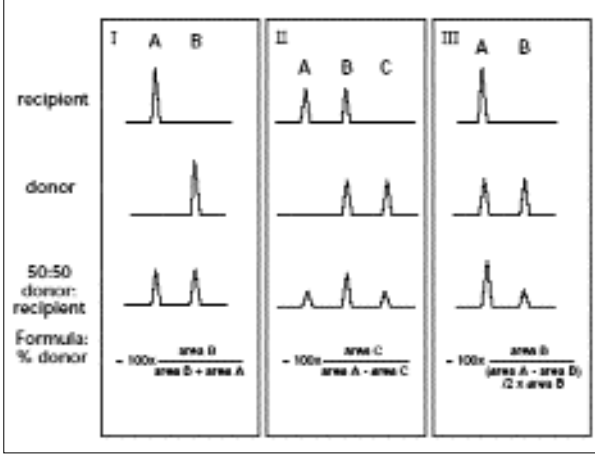
8. Hipersplenizm: KML ve miyelofibrozisi olan masif splenomegali olgularında önceleri önerildiyse de sonrasında yapılan çalışmalarda splenektomi ile sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmamış hatta negatif etkisi olduğu izlenmiştir. Engrafman uzamakla birlikte rutin splenektomi önerilmektedir (3).

## 2. Kimerizm;

a. *Tanım:* İncelenen örnekte konakçı kökenli olmayan lenfematopoietik hücrelerin saptanmasıdır.

b. *Belirleme yöntemleri:* Tablo 1'de özetlenmiştir. Her merkez kendi kullandığı hazırlık rejimi, hastalık tipi ve fazına uygun olarak kimerizm takibi yapmak zorundadır. Bu nedenle diğer BD ve üniversiteler ile de işbirliği yapılabilir. Allojeneik hematopoietik hücre naklinde (alloHNN) donör ve konakçı hücreleri ayırımında informatif "bilgilendirici" genetik belirleyicilerden (marker) yararlanılır. Bir genetik belirleyicinin bilgilendirici olması için bireylerin tek genetik bölgede heterozigot (heZ) veya homozigot özellikler taşımaları transplant sonucu konusunda bize yol gösterecektir. Örn: Donör (heZ) a ve b allelleri var, konakçı (heZ) a ve c allel-





MC kuantitatif değerlendirilmesi (hesaplanması)

I. Donör ve alıcının 2 yönlü heterozigot (HeZ) olması ve farklı (rahat ayırt edilebilir) bölgelerde peak (tepecik) içermesi.

II. İki HeZ allel var ve bir allel ortak.

III. HeZ ve Homozigot tepecikler var, 1 allel ortak

**Şekil 2.** Mikst kimerizm hesaplanması (Thiede ve ark., Bone marrow Transplant 1999; 23:1055-1060 adapte edilmiştir.)

kullanılan yöntemin duyarlılığı ve değerlendirilen komponent ve altta yatan hastalık değerlendirmede önemlidir. Bu nedenle güvenilir bir yöntemle her türlü konakçı kökenli hücre saptanması "karma kimerizm" olarak değerlendirilmelidir. Bu durumda üç alt biçimde karşımıza çıkmaktadır.

1. Azalan MC: Ardışık ölçümlerde konakçı hücrelerinin azalması ve donör tipi hücrelerin artışı. Kullanılan yöntemle göre  $>5-10$  azalma anlamlı olarak değerlendirilir (19, 20).

2. Artan MC: Ardışık ölçümlerde konakçı hücrelerinin artması ve donör tipi hücrelerin azalışı, engrafman kaybı ile sonuçlanabilir. Kullanılan yöntemle göre  $>5-10$  artma anlamlı olarak değerlendirilir (19, 20).

3. Sabit (stabil) MC: Ardışık ölçümlerde konakçı hücrelerinin ve donör tipi hücrelerin oranının belirgin değişkenlik göstermeyip sabit dengeli kalması durumudur. Bu tipinde kararlı (persistan) hastalık kontrolünü sağlayan ve immuno terapi gereksinimi olmaksızın devamlılık gösteren ve geçici, bir süre sonra MC artışa eğilim gösterip relapsla sonuçlanan formları ayırt edilmelidir.

iii. Seri özgü (lineage specific) kimerizm: Kemik iliği (Kİ) veya periferik kanın (PK) ayrılmamış değerlendirilmesi özel durumlarda yeğlenmemektedir. İndirgenmiş yoğunlukta veya ablatif olmayan hazırlık rejimi uygulamalarında ortaya çıkan karma kimerizmin yakın ve ardışık takibi ve niteliksel (kantitatif) değerlendirilmesi önerilmektedir. İncelenen örneğin alındığı ver (Kİ veya PK) ve hücre ayrıştırılmasının etkisi Tablo 3'de vurgulanmıştır.

**Tablo 3.** Örnek kaynağın ve hücre ayrıştırılmasının kimerizm analizi sonuçları üzerine etkisi (aynı hastadan elde edilen veriler) (11)

Hasta Örneği	Alıcı T Hücresi (%)	Kimerizm Sonucu, Yorum
Ayrılmamış kemik iliği	0,6	Verici tipi
Ayrılmamış periferik kan	2	Karma, seri belli değil
T hücreleri	20	Karma T hücreler
Granülositler	<1	Verici tipi miyeloid hücreler

1. CD34+: CD34+ AML olgularında 30. gün öncesi kemik iliğinde %80 altında donör hücresi kimerizmi görülen tüm hastalarda hastalık nüks etmiştir (21).

2. Lenfoid:

a. CD3+4+: Ortanca DCC için geçen süre 42 gün (11-749) olarak verilmiş ve uzamış değerlerin kGVHH ile ilişkisinin araştırılması vurgulanmıştır. CD8 T lenfositlere göre anlamlı olarak DCC ulaşma süreleri uzundur ( $p=0,0007$ ) (22).

b. CD3+8+: Ortanca DCC için geçen süre 41,5 gün (7-344) olarak verilmiştir, GvHH ile ilişki saptanmamıştır (22).

3. NK hücre: Çocuklarda geç tipte engrafman kaybını göstergesi olduğu bildirilmiştir (23)

4. Dendritik hücre (DC) : Nachbaur ve ark. Ablatif ve ablatif olmayan 28 nakilde monositer DC kimerizmini karşılaştırmışlar ve MC gösteren olguların DC olanlara göre daha yüksek relaps (%75 vs %14) ve daha az GvHH (%25 vs %81) izlendiğini bildirmişlerdir (24). DC1 tipi dolaşan hücrelerin DC2 ye baskın olduğu ve azınlık hastada uzun süreli konakçı tipi DC hücresi varlığının gösterilebildiği bildirilmektedir. Bu durumun GvHH etyopatogenezinde etkin olabileceği vurgulanmaktadır (25).

iv. Split (ayrık) kimerizm: Serilerin, (Örn: granülositler ve T lenfosit) birbirlerinden ayrı olarak verici ve alıcı yönünde komplet kimerik olma durumudur.

v. Mikrokimerizm: % 0,1-%0,3 oranında donör tipi hücrelerin görülmesi ve bu durumun stabilite göstermesi durumudur. Özellikle erkek çocuğu olan multipar annelerde gözlenebilen ve Otoimmün hastalıkların etyopatogenezinde rol aldığı düşünülen fetal mikrokimerizm (26), cinsiyet uyumsuz kan transfüzyonlarından sonra izlenen mikrokimerizm ve solid organ transplantlar ile birlikte transfer edilen lenfositlerin neden olduğu ve immuntoleransta etkin olabileceği vurgulanan mikrokimerizm örnek olarak verilebilir (27). Mikrokimerizmin

**Tablo 4.** Kimerizm testlerinin hematopoietik hücre naklinde klinik uygulama alanları (11)

- Donör engrafmanının dikümantasyonu
- Verici kökenli hücrelerin varlığının araştırılması;
  - nakil sonrası dönemde kemik iliği yetmezliği
  - ikinci transplant adayı
  - donör lenfosit infüzyonu (DLI) adayı
  - gizli rejeksiyon riski olanların uzun süreli takiplerinde
- GvHH, rejeksiyon veya hastalığın tekrarı
- Tekrarlayan malinite veya lenfoproliferatif sendromun kökeninin tanınması (konakçı veya verici)
- Ağır kombine immün yetmezlikli olgularda nakil öncesi maternal hücrelerin belirlenmesi
- Ağır kombine immün yetmezlikli olgularda immün rekonstrüksiyon ile engrafmanın ilişkilendirilmesi
- TA-GvHH'da donör kökenli hücrelerin saptanması
- İki zikrin genetik kimliklerinin doğrulanması

GvHH üzerine etkisi olabileceği de araştırılmaktadır (28, 29)

vi. Kimerizm (engrafman) kaybı: Erken ve geç tipi vardır. Erken tipi nakil öncesi allo-immünizasyon sonrası ve allojeneik direnç olmak üzere iki ana mekanizma ile açıklanmaktadır. Geniş serilerde erken tip engrafman kaybı HLA uyumlu kardeş, HLA uyumlu akraba dışı ve HLA parsiyel uyumlu akraba dışı allojeneik nakillerden sonra sırasıyla %5, %6 ve %15 olarak rapor edilmiştir. Geç tipi endoksan ile hazırlanmış ağır aplastik anemi olgularında bildirilmiştir (3).

vii. Otolog toparlanma: Özellikle aplastik anemide yıllar içinde ortaya çıkan ve hastanın tam kan sayımlarının düzelmiş olduğu fakat donör kimerizmi izlenmeyen olgulara rastlanmıştır (3).

**d. Kimerizm klinik kullanım alanları:** Tablo 4'de özetlenmiştir.

Kimerizm testlerinde elde edilen verilerin değerlendirilmesinde dikkat edilmesi gereken durumlar Tablo 5'de vurgulanmıştır.

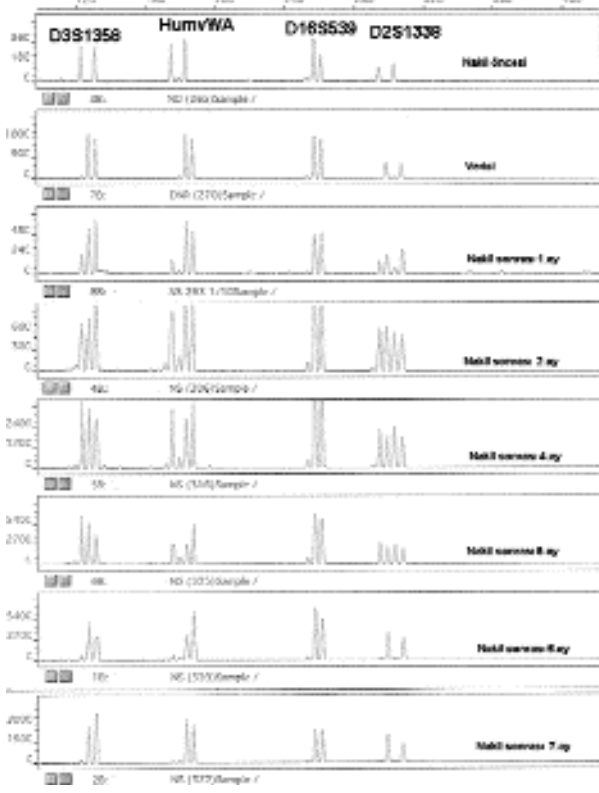
#### e. Rutin takip ve klinik veriler:

i. Ablatif rejim sonrası: Bader ve arkadaşları 55 pediatrik yaş grubu akut lösemili allojeneik Kİ nakli olgusunu kimerizm verilerine (VNTR) göre analiz etmiştir. Relapsız sağ kalım olasılığı CC olgularda %67, azalan tipte MC olgularında %100 ve artan tipte MC olgularında %10 olarak bildirmiştir (19). Barrios ve ark. 133 olguluk erişkin akut lösemi serisinde artan tipte MC olgularda %93 relaps riski ve %89,7 ölüm, CC olgularında %26,9 relaps ve %44,1 ölüm, ve azalan tipte MC olgularında %11,1 relaps ve %44,4 ölüm bildirmiştir. Aynı seride artan tip MC belirlenmesi ile relapsa kadar geçen süre ortanca 74 (5-434) gündür (20). Waesch ve ark. 101 olguluk serilerinde MC 20 olgunun beşinde (%25) ve CC 78 olgunun 10'unda (%13) relaps izlenmişlerdir (30). Mattsson ve ark. Fraksiyone TBI (fTBI) ve BU-CY rejimini karşılaştırdıkları 180 hastalık akut lösemi ve KML serisinde T hücre MC'nin fTBI'da daha az izlendiğini fakat BU sonrası relapsın belirgin daha az olduğunu (%44 vs %16, p=0,01) vurgulamışlardır (31). 104 hastalık akut lösemi serisinde kimerik analizlerde <%100 T Hücre kimerizmi gözlene olguların 6 aylık relaps insidansı MC de %47 ve DC'de %29 olarak saptanmıştır (HR:2,1, p=0,05) (32)

ii. İndirgenmiş yoğunlukta hazırlık rejimi sonrası: Carella ve arkadaşları Flu-Cy uygulanmış olan 9 yüksek riskli olguda HLA uygun kardeş vericiden nakil sonrası KML olgularında kuantitatif PCR ile bcr-abl azalması ve azalan tipte MC ilişkisini bildirmişlerdir (33). İbatici ileri lenfoproliferatif hastalığı olan 13 olguda, miyeloablatif olmayan HR

**Tablo 5.** Kimerizm takibinde ve sonuçları değerlendirilmesinde dikkat edilmesi gereken noktalar (11)

- Kimerizm verilerinin değerlendirilmesinde hastanın o andaki klinik durumu dikkatle göz önünde bulundurulmalıdır. Örn. Aplastik bir kemik iliğinde donör hücresi bulunamaması rejeksiyon içinde değerlendirilir. Fakat aygıtlanmamış kemik iliği veya kan örneklemede de benzer şekilde donör tipi hücre saptamayabilirsiniz fakat lösemik relaps gösteren olgularda alıcı hücrelerinin aşırı yoğunluğu verici tipi hücrelerin saptanmasını zorlaştırır.
- Kimerizm değerlendirmesi alıcı ve donör hücrelerinde birbirinden bağımsız olarak ölçülmekte ve oranlanmaktadır. Mikst kimerik bir olguda azalmaya yönelik MC (alıcı hücre oranının azalması) iki şekilde sağlanabilir. Verici hücrelerin artmaktadır veya alıcı hücreleri azalmaktadır. Örn: DLI ile verici tipi hücrelerin artılabileceği gibi, KML'de imatinib veya akut lösemilerde kemoterapi ile alıcı hücreleri azaltılarak MC yapı azalan yöne yönlendirilebilir.
- Değerlendirmelerde kimerizm analizinde incelenen hücreler mutlaka göz önüne alınmalıdır. Perifer kan mononükleer hücreleri aygıtlanmadan analiz edildiğinde bu örnekte T ve B lenfositler dışında, monositler, immatür miyeloid lösemik hücreler ve blastlarda değerlendirilmeye alınmış olabilir. Bu nedenle daha seri özgü ve saflaştırılmış örneklerden analiz yapılması yeğlenmektedir.
- Analizlerde özel bir hücre tipi varlığının saptanması o hücrelerin işlevsel kapasitelerini göstermez. Her alıcı tipi T hücre varlığı saptanması rejeksiyon olabileceği anlamına gelmez.
- Belli bir hücre alt tipi aranıyor fakat saptanamıyorsa, kullandığımız yöntemin duyarlılığının göz önünde alınması gerekir
- Spot kimerizm analizleri değil de ardışık sonuçlar ve değerlendirmeler daha yol gösterici olacak ve zaman karşı eğilimler belirlenebilecektir (Şekil 3).
- Bir transplant alıcısında hiç verici tipi hücre saptanamaması hem rejeksiyonu hem de relapsı öngörebilir.



AmpFISTR (Applied Biosystems, Foster City, CA, ABD) primer seti ile multiplex PCR yapılmış ve ABI 310 (Applied Biosystems) otomatize DNA sekans analizörü kullanılarak 4'lü floresan analizi (Genescan) yapılmıştır. AÜTF Hematoloji B.D. Lab. verileri (M. Bektaş, K. Dalva, E. Serbest).

**Şekil 3.** HG, 36, K, KML 1.KF, indirgenmiş yoğunlukta hazırlık rejimi (Flu-Bu) ile hazırlandı, HLA identik kardeş vericiden periferik HHN yapıldı, +13. ayında. Dört lokustan 3'ü informatif. Alellik olarak D3S1358 ve HumvWA tek yönlü heterozigot, D16S539 non-informatif ve D2S1358 çift yönlü heterozigot. Nakil sonrası 1. ayda >%90 üzeri verici kimerizmi izlenirken, 4. aya kadar artan tip bir MC, IS tedavinin kesilmesini takiben azalan tipte bir MC ve 7. ayda komplet verici tipi kimerizm izlendi. RQ-PCR bcr-abl negatifleşti.

ile +14. gün periferik kan T hücre kimerizminin (>%50) engrafman için yol gösterici olduğunu vurgulamıştır (34). NMA nakiller sonrasında full donör kimerizm elde edilmesinin stabil engrafman ve uzun süreli hastalık kontrolü için gerekli olduğu vurgulanmaktadır (35).

iii. Akut GvHH: Mattson ve ark. Non-miyeloablatif hazırlık rejiminden sonrası akut GvHH izlenen olguların 18/22 sinde T hücre karma kimerizm izlendiğini ve GvL göstergesi olduğunu bildirmişlerdir (36).

iv. Relaps sonrası

1. Immunsupresyonun kesilmesi

2. Donör lenfosit infüzyonu (DLI): Residüel hastalığın STR bazlı takibi ve artan MC olgularında DLI ve DLI sonrası kimerizm analizlerinin gereksiz DLI uygulamalarını ve bağlı görülebilecek toksisiteyi azalttığı izlenmiştir (37). KML olgularında DLI sonrası ardışık kimerizm analizlerinde bcr/abl PCR verileri ile kimerizm sonuçlarının paralellik gösterdiği ve tam remisyona ulaşılması için geçen sürenin kemik iliği donör tipi hücre miktarı ile ters korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (38). Hayvan çalışmalarında MC durumda DLI yapılan farelerde GvL etkisinin CC oranla daha baskın olduğu ve tüm olguların CC duruma dönüştüğü vurgulanmış, bu durumdan konakçı kökenli antijen sunan hücrelerin rolü olduğu düşünülmüştür (39).

3. STI 571: Ph+ ALL ve KML olgularında nakil sonrası relapsta imatinib etkinliğinin takibinde hem STR ve kimerizm analizi hem de RQ-PCR ile bcr/abl takibi önerilmekte ve ilacı dramatik cevabının görüldüğü bildirilmektedir (40). Avrupa'da yürütülmekte olan Faz 2 çok merkezli çalışmada nakil sonrası minimal residüel hastalığın tedavisinde STI571 kullanımının etkin ve güvenilir olduğu ön rapor olarak bildirilmiştir (41).

4. Retransplant: Aynı vericiden veya potansiyel ikinci bir donörden. Miks kimerik yapının tamamen ortadan kalktığı ve alıcı kimerizmine dönüş olan olgularda planlanır.

3. Özet: 2001 yılında NMDP ve IBMTR istemi üzerine, ASBMT ve IBMTR/ABMTR tarafından gerçekleştirilen çalışmada aşağıdaki kılavuza göre hareket edilmesi önerilmiştir (42). Benzer çıkarımlar Leukemia'da yayınlanan tartışma forumunda da yapılmıştır (43-47).

a. Kimerizm belirlenmesinde hassas ve bilgilendirici tetkikler kullanılmalıdır.

b. Genelde kimerizm analizi için periferik kan hücreleri kemik iliğine göre daha yararlıdır.

c. Ablatif olmayan veya indirgenmiş yoğunlukta hazırlık rejimleri sonrasında seri özgül kimerizm yöntemi yeğlenmelidir.

d. T hücre eksiltimi, ablatif olmayan veya indirgenmiş yoğunlukta hazırlık rejimleri, veya yeni GvHH profilaktik rejimleri kullanılması 1., 3., 6. ve 12. aylarda kimerizm analizleri yapılmasını gerektirir. DLI uygulaması kimerizm verilerine göre planlanacaktır.

e. Miyeloablatif olmayan transplantlarda kimerizmin erken verileri GVHH veya graft kaybını öngörebilir. Bu nedenle daha sık (her 2-4 hafta) periferik kandan analiz önerilir.

f. Malin olmayan hastalıklarda kimerizm transplant sonrası 1., 2. ve 3. aylarda değerlendirilir.

rilmelidir. Verici tipi toparlanmayı arttıracak girişimler için karar verirken altta yatan hastalığa özgü karar verilmeli ve takiben GvHH olasılığı ve klinik yarar mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır. (Örn. talasemi, immun yetmezlikler, depo hastalıkları vb.)

Kimerizm sonuçları ve minimal residüel hastalığın saptanmasında kullanılan yöntemler geliştikçe sensitivite de artmaktadır. Transplant hekimleri altta yatan hastalık ve yapılan transplant işlemi ışığında tüm verileri ayrıntılı olarak zaman bazında ve transplant komplikasyonlarını da izleyerek uygun zaman aralığında değerlendirmelidir. Bu sayede zamanında immuno terapötik girişimler ile graft ömrü ve hastaliksız ve genel sağ kalım artırılabilir, ve bizler bir terzi ustalığı ve becerisi ile nakil işleminin sonuçlarını şekillendirebileceğiz.

#### KAYNAKLAR

1. Cahill RA, Spitzer TR, Mazumder A. Marrow engraftment and clinical manifestations of capillary leak syndrome. *Bone Marrow Transplant* 1996; 18: 177-184.
2. Spitzer TR. Engraftment syndrome following hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 893-898.
3. Atkinson K. Hematopoietic reconstruction posttransplant. In: *Clinical bone marrow and blood stem cell transplantation*. Ed. K. Atkinson. 2nd edition, Cambridge Un. Press, UK. Pp.74-98.
4. Bensinger WI, Martin PJ, Storer B, et al. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *New Engl J Med* 2001; 344: 175-181.
5. Haas R, Witt B, Mohle R, et al. Sustained long-term hematopoiesis after myeloablative therapy with peripheral blood progenitor cell support. *Blood* 1995; 85: 3754-3761.
6. Mifflin G, Stainer CJ, Carter GI, et al. Comparative serial quantitative measurements of chimerism following unmanipulated allogeneic transplantation of peripheral blood stem cells and bone marrow. *Brit J Haematol* 1999; 107: 429-440.
7. İlhan O, Arslan Ö, Arat M, et al. The impact of CD34+ cell dose on engraftment in allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Transfusion Science* 1999; 20: 69-71.
8. Bishop MR, Tarantolo SR, Geller RB, et al. A randomized double blind trial of filgrastim versus placebo following allogeneic blood stem cell transplantation. *Blood* 96; 80-85: 2000.
9. Thiede C, Florek M, Bornhauser M, et al. Rapid quantification of mixed chimerism using multiplex amplification of short tandem repeat markers and fluorescence detection. *Bone Marrow Transplant* 1999; 23: 1055-1060.
10. Shimoni A, Nagler A. Non-myeloablative stem cell transplantation (NST): chimerism testing as guidance for immune-therapeutic manipulations. *Leukemia* 2001; 15: 1967-1975.
11. Bryant E, Martin PJ. Documentation of engraftment and characterization of chimerism following hematopoietic cell transplantation. In: *Hematopoietic Cell Transplantation*. Ed. Thomas ED, Blume KG and Forman SJ. 2nd Ed. Blackwell Science, Malden. pp.197-206.
12. G. Gurman, M. Arat, E. Soydan, et al. Kinetics of chimerism in sex-mismatched allogeneic hematopoietic cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31 (Suppl 1): S156.
13. Turkiewicz D, Gorczynska E, Toporski J, et al. Monitoring of hematopoietic chimerism after sex-mismatched allogeneic stem cell transplantation (alloSCT) by dual-color FISH analysis of X and Y chromosomes. *Leuk Res* 2003; 27: 993-998.
14. Buno I, Moreno-Lopez E, Grande A, et al. Chimerism quantification by FISH on routine smears: easier, faster and more sensitive than PCR. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31 (Suppl 1): P572.
15. Thiede C, Kellermann T, Schwerdtfeger R, et al. Real-time PCR for the SRY-gene allows sensitive and quantitative analysis after allogeneic blood stem cell transplantation: clinical results in 43 patients. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31 (Suppl 1): O161.
16. Mattsson J, Uzunel M, Tammik L, et al. Leukemia lineage-specific chimerism analysis is a sensitive predictor of relapse in patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia* 2001; 15: 1976-1985.
17. Naparstek E, Vainas O, Eshel R. Real time PCR/SNP assay for monitoring chimerism after allogeneic SCT. *Blood* 2003; 102 (Suppl 2 of 2): a5460.
18. Elmaagacli A, Hlinka M, Steckel NC, et al. A new sensitive quantitative real-time PCT method for chimerism analyses can help to identify patients high risk for leukemic relapse after allo SCT earlier than STR-PCR chimerism analyses. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31 (Suppl 1): P526.
19. Bader P, Beck J, Frey A, et al. Serial quantitative analysis of mixed hematopoietic chimerism by PCR in patients with acute leukemias allows the prediction of relapse after allogeneic BMT. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21: 487-495.
20. Barrios M, Jimenez-Velasco A, Roman-Gomez J, et al. Chimerism status is a useful predictor of relapse after allogeneic stem cell transplantation for acute leukemia. *Haematologica* 2003; 88 : 801-810.
21. Scheffold, C, Kroeger M, Gerda S, et al. Monitoring of donor cell chimerism in marrow CD34+ cells after allogeneic SCT: prediction of relapse in CD34+ AML. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29 (Suppl 2): P605.
22. Thiede C, Lutterbeck K., Oelschlaegel U., et al. Differential chimerism analysis in CD8+ and CD4+ cells: kinetics of engraftment and impact on the development of acute and chronic GVHD. *Bone Marrow*

- Transplant 2002; 29 (Suppl 2): O342.
23. Martin SM, Lion T, Haas O, et al. Lineage spec. chimerism after stem cell transplantation in children following RIC : potential predictive value of NK cell chimerism for late graft rejection. *Blood* 2003; 102 (Suppl 1 of 2): a1658.
  24. Nachbaur D, Kircher B, Einsiedle K, et al. Analysis of phenotype, function, and chimerism of monocyte-derived dendritic cells after myeloablative vs non-myeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31 (Suppl 1): P701.
  25. Vasir B, Rosenblatt J, Wu Z, et al. Dendritic cell chimerism and function following nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2003; 102 (Suppl 1 of 2): a2575.
  26. Lambert NC, Dennis Lo YM, Erickson TD, et al. Male microchimerism in healthy women and women with scleroderma: cells or circulating DNA? A quantitative answer. *Blood* 2002; 100: 2845-2851.
  27. Flesland O, Pfeffer PF, Solheim BG, et al. Donor lymphocytes transferred with the graft to kidney recipients. Potential for establishing microchimerism. *Transf Apher Sci* 2003; 28: 125-128.
  28. James E, Chai J-G, Dewchand H, et al. Multiparity induces priming to male-specific minor histocompatibility antigen, HY, in mice and humans. *Blood* 2003; 102: 388-393.
  29. M. Arat, EA Soydan, P. Topçuoğlu, ve ark. Cinsiyet uyumsuz allojeneik hematopoietik hücre transplantlarda nakil öncesi parite ile graft versus host hastalığı insidansı ilişkisi. *Turkish J Haematol* 2003; 20 (Suppl): 53.
  30. Waesch R, Bertz H, Kunzmann R, et al. Incidence of mixed chimerism and clinical outcome in 101 patients after myeloablative conditioning regimens and allogeneic stem cell transplantation. *Brit J Haematol* 2000; 109: 743-750.
  31. Mattsson J, Uzunel M, Remberger M, et al. Fractionated TBI is associated with less T cell mixed chimerism and increased risk of relapse compared to busulfan in patients with acute leukemia and CML after allogeneic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29 (Suppl 2): O103.
  32. de Lima M, Carrasco A, S. Lee M, et al. Mixed chimerism after allogeneic HSCT for AML and MDS. *Blood* 2003; 102 (Suppl 1 of 2): a2616.
  33. Carella AM, Lerma E, Dejana A, et al. Engraftment of HLA-matched sibling hematopoietic stem cells after immunosuppressive conditioning regimen in patients with hematologic malignancies. *Haematologica* 1998; 83: 904-909.
  34. Ibatci A, Soligo D, Morandi P, et al. Day 14+ donor/recipient peripheral blood T-cell chimerism analysis as predictor indicator of graft loss after low-dose, TBI-based, non-myeloablative conditioning regimen in advanced lymphoproliferative disorders. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29 (Suppl 2): P615.
  35. Huff CA, Jones RJ, Flinn I, et al. Full donor chimerism is required for stable engraftment and durable disease control after NM allogeneic blood or BMT. *Blood* 2003; 102 (Suppl 1 of 2): a1703.
  36. Mattsson J, Uzunel M, Brune M, et al. Mixed chimerism is a common at the time of acute graft-versus-host disease and disease response in patients receiving non-myeloablative conditioning and allogeneic stem cell transplantation. *Brit J Haematol* 2001; 115: 935-944.
  37. de Weger RA, Tilanus MGJ, Sheidel KC, et al. Monitoring of residual disease and guided donor leucocyte infusion after allogeneic bone marrow transplantation by chimerism analysis with short tandem repeats. *Brit J Haematol* 2000; 110: 647-653.
  38. Rapanotti MC, Arcese W, Buffolino S, et al. Sequential monitoring of chimerism in chronic myeloid leukemia patients receiving donor lymphocyte transfusion for relapse after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1997; 19: 703-707.
  39. Mapara MP, Kim Y-P, Wang S-P, et al. DLI mediate superior GVL effects in mixed compared to fully allogeneic chimeras: a critical role for host antigen-presenting cells. *Blood* 2002; 109: 1903-1909.
  40. Bories D, Chami I, Perot C, et al. BCR-ABL real time quantitative RT-PCR and STR hematopoietic chimerism monitoring of tyrosine kinase inhibitor (STI571/Imatinib) treated Ph+ leukemia patients in relapse after HSCT. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29 (Suppl 2): P523.
  41. Hess G, Siegert W, Kolb HJ, et al. A Phase II open label study to investigate the safety profile and potential of imatinib Mesylate to restore molecular remissions and chimerism in patients with bcr-abl positive CML with MRD post allogeneic BMT/SCT. *Blood* 2002; 100 (Suppl: part 1 of 2) : a665.
  42. Antin JH, Childs R, Filipovich AH, et al. Establishment of complete and mixed donor chimerism after allogeneic lymphohematopoietic transplantation: Recommendations from a workshop at the 2001 tandem meetings. *Biol Blood Marrow* 2001; 7: 473-485.
  43. Lion T, Muller-Berat N. Chimerism testing after allogeneic stem cell transplantation: importance of timing and optimal technique for testing in different clinical-biological conditions. *Leukemia* 2001; 15: 1966.
  44. Gonzalez M, Lopez-Perez M, Garcia-Sanz M, et al. Debate round-table: Comments concerning chimerism studies. *Leukemia* 2001; 15: 1986-1988.
  45. Klingebiel T, Niethammer D, Dietz K, et al. Progress in chimerism analysis in childhood malignancies - the dilemma of biostatistical considerations and ethical implications. *Leukemia* 2001; 15: 1989-1991.
  46. M Lawler. Prospective chimerism analysis, the time is now but can we respond? *Leukemia* 2001; 15: 1992-1994.
  47. A Biondi, A Balduzzi. Questions on chimerism analysis after stem cell transplantation. *Leukemia* 2001; 15: 1995.
- AÜTF Hematoloji BD. Laboratuvarından Klara Dalva ve Esin Serbest'e katkılarından dolayı teşekkür ederim.*