

Periferik Kök Hücre Mobilizasyon Teknikleri ve Mobilizasyona Etkili Faktörler

Taner DEMİRER

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı

Son dekat içerisinde gerek allojeneik gereksede otolog kök hücreler transplantasyon için artan sıklıkta kullanılmakta olup kök hücreler artık kemik iliğinin (Kİ) yerine geçmiştir. Bugün bütün dünyada kemik iliğinin transplant amaçlı kullanımı çok sınırlı bir düzeye inmiştir. Kök hücrelerin kullanımı ile hem nötrofil hemde trombosit graflarının erken tutması ve bununla birlikte transfüzyon ihtiyacının ve hastanede kalma süresinin azaldığı kesin bir şekilde gösterilmiştir (1-3). Ayrıca kök hücre toplanması için anestezi ve ameliyathane ortamının gerekmemesi hem otolog kök hücre toplanmasını kolaylaştırmış hemde allojeneik vericiler için donörlüğü cazip hale getirmiştir.

Kök Hücre Toplanmasında Yeterli Olduğu Kabul Edilebilecek Minimal Sayı Ne Olmalıdır?

Kök hücrelerin kullanımının ilk yıllarında hangi hücrenin graftın tutması yönünde bir ölçü olacağı uzun zaman tartışma konusu olmuştur. İlk yıllarda bazı merkezler mononükleer hücre sayılarını (MNH) esas almışlar isede zamanla yapılan çalışmalar CFU-GM (Colony forming unit granulocyte-macrophage) sayısı ve CD34+ hücreler üzerine yoğunlaşmıştır (4-9). Bu her 2 hücre grubunun sayıları infüzyondan önce graftın kalitesinin kontrolü için yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştır. CFU-GM assay lerinin çok zor ve zaman alıcı olması nedeni ile bir çok enstitü bu yöntemi bırakarak CD34+ hücre assay lerine geçmişlerdir. Yapılan bir çok çalışma CD34+ hücrelerin sayısının CFU-GM kadar hatta ondan çok daha iyi bir indikatör olduğunu göstermiştir (10-14). Schwartzberg ve arkadaşları 52 hastada yaptıkları bir çalışmada 2.5×10^6 CD34+ hücre /kg sayısının gerek nötrofil ge-

reksede trombositlerin hızlı tutmasını sağladığını göstermiş ve bu sayısının eşik değer (threshold) olduğunu bildirmişlerdir (12). Seattle dan Bensinger ve arkadaşları 243 hasta içeren ve JCO da yayınlanan bir çalışmada 2.5×10^6 CD34+ hücre/kg alan hastalarda bu rakamın altında alan hastalara göre otolog graftın daha erken tuttuğunu bildirmişlerdir 8. Yine bu çalışma göstermiştir ki 2.5×10^6 CD34+ hücre /kg alan hastaların yaklaşık %60-65 inde hem nötrofil hemde trombosit graflarının başarı ile tuttuğunu ancak bu sayı 5×10^6 /kg nin üzerine çıktığında bu başarının %95 lere çıktığını bildirmişlerdir 8. Weaver ve arkadaşları da yaptıkları bir çalışmada 5×10^6 /kg dozunu alan hastaların yaklaşık %95 in de nötrofil ve trombosit graflarının başarı ile tuttuğunu göstermişlerdir 10. Almanyadan Haas ve arkadaşları ise 2.5×10^6 /kg dozunu alan otolog hastalarında 2 hafta içinde graftın başarı ile tuttuğunu göstermişlerdir 14. Özet olarak söylemek gerekirse bugün dünyanın birçok merkezinde 2.5×10^6 CD34+ hücre/kg sayısı başarılı bir graft için minimal sayı olarak kabul edilmekte ve hedef sayılar ise 4 veya 5×10^6 CD34+ hücre/kg olarak kabul edilmektedir 15-19. Örneğin Seattle da hedef hücre sayısı 5×10^6 /kg iken İbn-i Sina hastanesinde bu sayı 4×10^6 /kg olarak kabul edilmektedir.

Başarılı Bir Mobilizasyonda Rol Oynayan Faktörler

Hangi hastadan ne kadar çok CD34+ hücre toplanabileceği uzun zaman tartışma konusu olmuş ve bir çok otör mobilizasyona etki eden faktörler üzerinde çalışmışlardır (19-23). Bazı hastalardan bir defada çok sayıda hücre elde edilirken bazıla-

rında ise yeterli sayıda CD34+ hücre elde etmek için bir çok kez toplama işlemi yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (7,8, 13-15). Seattle da Demirer ve arkadaşları tarafından yapılan 2 çalışma hastanın yaşının genç olması, Kİ nin temiz olması, önceden radioterapi (RT) alınmamış olması, ve önceden alınan kemoterapilerin sayısı ve türlerinin az olmasının otolog transplant için toplanacak CD34+ hücre sayılarını arttırdığını göstermiştir (7,8). Yine Demirer ve arkadaşları sıklıkla kök hücre toplanmasında zorluk arz eden multiple myelomalı (MM) bir hasta grubunda yaptıkları çalışmada Kİ nin plazma hücreleri ile tutulum oranının, önceki RT lerin sıklığı ve dozlarının, ve önceden alınan kemoterapilerin sayısı ve yoğunluklarının MM lı hastalarda toplanacak CD34+ hücre sayılarına etki eden en önemli faktörler olduğunu göstermişlerdir (16). Tricot ve arkadaşları önceden verilen melfalan gibi alkile edici ajanların kullanımının toplanacak CD34+ hücre sayılarını önemli ölçüde azalttığını bildirmiştir (13).

Kök Hücreler Ne Zaman Toplanmalıdır?

Otolog kök hücre transplantları başladığından beri kök hücrelerin toplama zamanı için değişik parametreler kullanılmıştır. Kemoterapiyi takiben oluşan nötropeni ve bunun düzelmesi için geçen 10-18 günlük bir süreden sonra başarılı toplama işlemleri bildirilmiştir. Başlangıçta bazı otörler kemoterapi ve G-CSF nin başlanmasından sonra lökosit sayıları $> 1 \times 10^9/L$ nin üzerine çıktığı zaman toplama işlemine başlamışlardır. Bununla birlikte bazı otörler lökosit sayılarının 2, 3 veya $10 \times 10^9/L$ eşğine geldiği zaman başarılı toplama işlemi yaptıklarını bildirmişlerdir (11-21). Demirer ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada kemoterapi ve G-CSF i takiben lökosit sayısı $> 1 \times 10^9/L$ ye ulaşan fakat hala trombosit transfüzyonuna ihtiyaç duyan hastalarda yeterli sayıda CD34+ hücre elde edemediklerini bildirmişlerdir (22). Son yıllarda lökosit sayıları yerine aferez öncesinde perifer kanda sirküle eden CD34+ hücre sayıları baz alınarak başarılı toplama işlemleri bildirilmiştir. Siena ve arkadaşları perifer kanda CD34+ hücreler görülmeye başladığı zaman aferez yapıldığında yüksek sayıda CD34+ hücre toplandığını bildirmişlerdir (15). Haas ve arkadaşları ise aferez öncesi perifer kanda sirküle eden CD34+ hücre sayıları 50 / ul ye ulaştığında toplama yapılması ile bir defada $> 2.5 \times 10^6$ CD34+ hücre/kg elde edilebileceğini göstermişlerdir (14). Passos-Coelho ve arkadaşları ise aferez öncesi perifer kanda sirküle eden CD34+ hücre yüzdesinin % 0.5 ve üstünde olduğu zaman toplama

ma yapıldığında yeterli sayıda CD34+ hücre elde edildiğini göstermişlerdir (24). Demirer ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada aferez öncesi perifer kanda CD34+ hücre sayılarının 34 / ul ye ulaştığında toplama yapılması ile bir defada $> 2.5 \times 10^6$ CD34+ hücre/kg elde edilebileceğini göstermişlerdir (25).

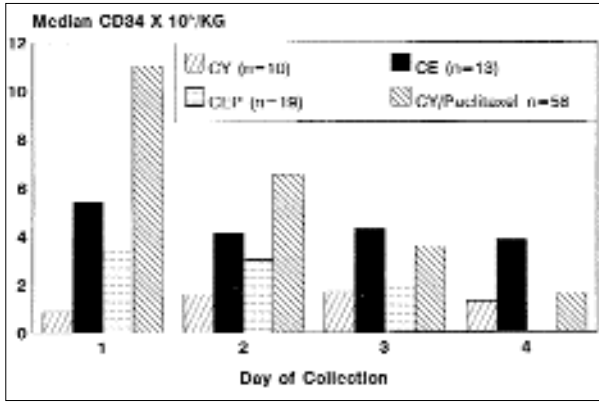
Otolog Kök Hücre Toplanması İçin Kemoterapi ve Büyüme Faktörlerinin Birlikte Kullanılması

Yapılan bazı assay çalışmaları orta veya yüksek dozlarda kemoterapi verilen hastalarda lökopeniyi takiben perifer kanda sirküle eden CD34+ hücre sayılarında artış olduğunu rapor etmişlerdir. Bu gözlemi baz alarak bazı hastalarda böyle kemoterapileri takiben büyüme faktörü vermeksizin (Steady state) kök hücre toplama girişimi yapılmış ve başarı sonuçlar elde edilmiştir.

Bugün bütün dünyada otolog kök hücre toplanması için en sık kullanılan kemoterapötik ajan siklofosfamid (CY) dir (21, 26-28). İlk toplama tecrübeleri CY + GM-CSF ve G-CSF ile edinilmiştir. Demirer ve arkadaşları Seattle da CY + etoposide + G-CSF (CE), CY + etoposide + sisplatin + G-CSF (CEP) rejimlerini geliştirmişlerdir. Demirer ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda CE, CEP ve CY + paclitaxel rejimlerinin otolog kök hücre toplanmasında yalnız başına CY den daha etkili olduğunu göstermişlerdir (Bakınız Figür-1) (24, 29, 30). Ayrıca özellikle CE ve CEP şemalarına dekzametazon ilavesinin özellikle lenfoid maligniteli hastalarda toplanan CD34+ hücre sayılarını arttırdığı Seattle ekibi tarafından gözlemlenmiştir.

Demirer ve arkadaşları meme ve over kanserli hastalarda paclitaxel in CY a ilavesinin toplanan CD34+ hücre sayılarını hemen hemen 2 kat arttırdığını rapor etmişlerdir (30). Aynı şekilde etoposidin CY a ilavesi ile toplanan CD34+ hücre sayılarında önemli miktarda artışlar bildirmişlerdir. Demirer ve arkadaşları kemoterapiyi takiben verilen G-CSF dozunun toplanan CD34+ hücre sayıları ile korrelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir (22). Kemoterapiyi takiben 16 ug/kg G-CSF verilen hastalarda toplanan CD34+ hücre sayılarının 10 ug/kg alan gruptan istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görülmüştür.

Demirer ve arkadaşları British Journal of Haematology de yaptıkları bir yayında kemoterapiyi takiben 8 ug/kg/gün ile 16 ug/kg/gün G-CSF dozlarını karşılaştırmışlar ve doz artımı ile daha fazla sayıda CD34+ hücre toplandığını ve dolayısı ile bu grupta nötrofil grafitının daha hızlı gerçekleştiğini



Figür 1. Farklı rejimlerin CD34+ hücre sayıları baz alınarak kıyaslanması

bildirmişlerdir (31). Bu çalışmada G-CSF in yüksek dozunun kullanımı ile diğer peritransplant parametrelerde 2 grup arasında bir fark görülmemiştir (bakınız Tablo-1).

Buda göstermektedirki otolog transplantlarda kök hücre toplamak için G-CSF in 10 ug/kg/günden fazla kullanımı ilave bir yarar sağlamamaktadır (31).

Yapılan bazı çalışmalar kök hücre toksini olarak bilinen BCNU, melfalan, ve thiotepa gibi ajanların toplanan CD34+ hücre sayılarını azalttığını bildirmiş ise de Dexa-BEAM (dexametazon, BCNU, etoposide, ARA-C ve melfalan) ile başarılı kök hücre mobilizasyonları rapor edilmiştir (21). Özet olarak söylemek gerekirse otolog kök hücre mobilizasyonu için kullanılacak kemoterapötik ajanların hem altta yatan hastalığa karşı etkin hemde kök hücre mobilizasyonunu kolaylaştırıcı olmaları gerekmektedir. Bu şekilde transplant öncesi hem sitoredüksiyon hemde mobilizasyon birlikte sağlanmış olmaktadır. Bu nedenledirki CY, etoposide, sisplatin, ARA-C, mitoksantron, ifosfamid ve paclitaxel gibi ajanlar G-CSF ile birlikte hem pretransp-

lant sitoredüksiyon hemde kök hücre mobilizasyonu için kullanılmaktadırlar (22,24,30). Bu bağlamda gerek DHAP ve gereksede ICE rejimleri bazı merkezlerde kök hücre mobilize edici rejimler olarak kullanılmaktadırlar. Bu konuda bir çok merkezde çalışmalar sürmekte olup IL-3 ve Stem Cell Faktör (SCF) gibi bazı yeni ajanların bu şemalara ilave edilmesi ile toplanacak CD34+ hücre sayılarına etkileri değerlendirilmektedir. Yukarıda bahsedilen rejimlerden birisi olan ve gerek Seattle gereksede İbn-i Sina hastanesinde en sık kullanılan CE rejiminin SOP si aşağıda verilmiştir.

Sık Kullanılan Sitoredüksiyon ve Mobilizasyon Şemaları

En sık kullanılan rejimler CY, CE, CEP + G-CSF ve CY + Paclitaxel olup bu rejimlerin kullanımı ile ilgili şemalar aşağıda verilmiştir.

Tablo II. CY + G-CSF Şeması

Gun	1	2	3	4
Siklofosfamid (4 gm/m ² x 1)	X			
Mezna (4 gm/m ² , 3 doz)	X			
**Dekzametazon (10 mg PO QID x 4 gün)	X	-----	X	
G-CSF (10 ug/kg/gun)		X	-----	X
Lökoferez*				X X X

* WBC > 1000-2000 / mm³ veya periferik CD34+ hücre sayısı 20.000'den fazla olması halinde uygulanır.
** Lenfosit indolgentlerdir

Tablo I. Peritransplant Mobilizasyonu Kıyaslanması

	8 ug/kg/gun G-CSF (n = 20) Med (Range)	10 ug/kg/gun G-CSF (n = 23) Med (Range)	P value
WBC grafi (günler)	12 (10-20)	9 (8-11)	P < 0.001
Platelet grafi (günler)	13 (11-20)	12 (10-18)	P = 0.10
RBC transfüzyon (ünitler)	2 (0-4)	1 (0-4)	P = 0.56
Platelet transfüzyon (ünitler)	8 (0-30)	7 (0-24)	P = 0.22
TPN gereksinimi (günler)	5 (0-13)	4 (0-13)	P = 0.84
Ateşli günler	2 (0-11)	2 (0-10)	P = 0.93
Antibiyotikli günler	5 (0-17)	4 (0-16)	P = 0.77
Farklı antibiyotiklerin sayıları	1 (0-3)	1 (0-2)	P = 0.50

Tablo III. CE + G-CSF Şeması

Gün	1	2	3	4
Siklofosfamid (4 gm/m ² x 1)	X			
Mezna (4 gm/m ² , 3 doz)	X			
VP-16 (200 mg/m ² qd x 3)	X	X	X	
**Deksametazon (10 mg PO QID x 4 gün)	X	X	X	X
G-CSF (10 ug/kg/gün)		X	-----	X
Lökoferez*				X X X

* WBC > 1000-2000 / mm³ veya perifer CD34+ hücre sayısı 20 ul olduğu zaman başlanır.

** Lortoid malignitelerinde

Tablo IV. CEP + G-CSF Şeması

Gün	1	2	3	4
Siklofosfamid (4 gm/m ² x 1)	X			
Mezna (4 gm/m ² , 3 doz)	X			
VP-16 (200 mg/m ² qd x 3)	X	X	X	
**Cisplatin (35 mg/m ² qd x 3)	X	X	X	
G-CSF (10 ug/kg/gün)		X	-----	X
Lökoferez*				X X X

* WBC > 1000-2000 / mm³ veya perifer CD34+ hücre sayısı 20 ul olduğu zaman başlanır.

** Lortoid malignitelerinde

Siklofosfamid (CY), etoposid (VP-16), ve rhG-CSF ile sitoredüksiyon ve periferik kök hücre mobilizasyonun detaylar

a) Amaçlar:

- Maksimum sitoredüksiyon elde etmek
- Maximum CD34+ hücre elde etmek
- Hedef 4-5 x 10⁶/kg CD34+ hücre ancak minimal gereksinim 2.5 x 10⁶/kg dir.
- Stem hücreler üzerinde yapılacak immünolojik, immünohistokimyasal ve fenotipik çalışmalar için numune sağlamak.

b) PKH toplanımından önce hasta transplant adayı ise transplant öncesi rutin tetkik ve konsültasyonlar mobilizasyon şeması verilmeden önce tamamlanacaktır.

c) Hastaya gerekiyorsa 12 no lu Hickman kateteri tedaviden 1 gün önce takılmalıdır. (Genel cer-

Tablo V. CY + Paclitaxel Şeması

Gün	1	2	3	4
Siklofosfamid (4 gm/m ² x 1)	X			
Mezna (4 gm/m ² , 3 doz)	X			
Paclitaxel (250 mg/m ² x 1)		X		
G-CSF (10 ug/kg/gün)			X	----- X
Lökoferez*				X X X

* WBC > 1000-2000 / mm³ veya perifer CD34+ hücre sayısı 20 ul olduğu zaman başlanır.

rahiden 2 gün önce randevu alınacaktır. Hasta cerrahiye yanında 1 ampul citanest, 1 ampul heparin ve 500 cc serum fizyolojik ile gidecektir.

d) Hasta mümkünse özel odaya alınmalıdır.

e) Sitoredüksiyon ve PKH mobilizasyon şeması Bakınız Tablo-III

f) Endoksanın verilışı

• Bu şemaya başlamadan önce bayan hastalara Farlutal 1000 mg flakon İM depo dozu tedavisi sırasında istenmeyen mensesi önlemek için yaş grubu uygun hastalara verilir

• Bu şemaya başlamadan önce hastanın tam kan, KC fonksiyonları, elektrolitler, Ca, fosfor ve idrar tetkikleri istenip değerlendirileceklerdir. Tedavi başladıktan sonra her gün tam kan ve elektrolitler istenecektir.

• Hidrasyon: Endoksan dan 3 saat önce başlanacaktır. SF (litrede 20 mEq KCL içeren) 130 cc/saatte 24 saat boyunca, daha sonra 80 cc/saatte 48 saat (etoposid bittikten ertesi güne kadar) devam edilecektir.

• 250 cc NS içine 10 mg navoban veya Kytril 6 mg konarak endoksan verilmeden 30 dakika boyunca infüze edilecektir.

• Endoksan dan hemen önce 1 gr/m² mezna IV bolus olarak verilecektir.

• Endoksan 4 gr/m² İV 1000 cc SF içinde 1 saat boyunca sadece 1. günde verilecektir. Mezna 1 gr/m² IV bolus endoksan dan 4 saat sonra verilecektir. Meznanın üçüncü dozu 1 gr/m² (250 cc NS içinde) endoksandan 8 saat sonra gece boyunca devamlı infüzyon şeklinde sabaha kadar verilecektir.

• Endoksan dan 4 ve 8 saat sonra navoban, Kytril veya setron grubu bir antiemetik İV olarak verilecektir.

• Hastalarda bu tedavilere rağmen bulantı kusma olursa metpamid 20 mg (2 ampul) ve benison,

benadril veya avil ampul İV puşe edilecektir. Bunlar 4-6 saatte bir gereklikçe tekrarlanabilir.

g) Etoposidin verilışı: Etoposid endoksanın bitiminden 4 saat sonra 200 mg/m²/gün İV 1000 cc NS içinde 2 saat boyunca pompa ile verilecektir. Bu tedavi 3 gün süre ile verilecektir. Etoposid den önce ve sonra navoban 5 mg veya kytril 3 mg İV verilecektir.

- Hastalarda bu tedavilere rağmen bulantı kusma olursa metpamid 20 mg (2 ampul) ve benison, avil veya benadril ampul İV puşe edilecektir. Bunlar 4-6 saatte bir gereklikçe tekrarlanabilir.

h) G-CSF in verilışı

- 10 ug/kg/gün olarak günde 2 doz olarak (sabah saat 5 ve akşam saat 5 te) subkutan veya İV (trombositopeni döneminde) verilir.

- G-CSF e aferezin son gününe kadar devam edilecektir. Eğer bu esnada herhangi bir zamanda WBC sayısı 100000/mm³ ü geçerse G-CSF kesilebilir.

- Afereze periferde sirküle eden CD34+ hücre sayısı 20 ul ye ulaşınca veya bunun assay edilemediği durumlarda WBC sayısı 1000 -2000 /mm³ e ulaşınca başlanacaktır. Bugünün yaklaşık olarak tahmin edildiği güne aferez ekibinden randevu alınacaktır.

Yalnız Başına Büyüme Faktörü Kullanılarak Ototog Kök Hücre Toplanması

Büyüme faktörlerinin ve özelliklede G-CSF in kemoterapisiz kullanımı ile Kİ deki kök hücrelerin stimüle edilerek proliferasyonlarının arttığı ve bunun 4-6 günlük bir düzenli kullanımı takiben maksimale ulaştığı çok iyi bilinmektedir (32-34). Bunun ötesinde 7. günden sonra G-CSF in verilmesinin ilave bir fayda sağlamadığı bilinmektedir (14,15). Yapılan bazı çalışmalar kemoterapi olmaksızın yalnız başına G-CSF kullanımı ile kök hücrelerin başarı ile mobilize edildiğini ve yeterli sayıda CD34+ hücre toplanabildiğini göstermiştir. Fakat bu alanda çok sayıda yapılmış yayınlar göstermiştir ki yalnız başına G-CSF kullanımına kıyasla G-CSF in kemoterapiyi takiben kullanımı toplanan CD34+ hücre sayılarını hemen hemen 2 kat arttırmaktadır (22,29). Kök hücre mobilizasyonunda kullanılan G-CSF in dozu ile toplanan CD34+ hücre sayısı arasında bir korrelasyon olduğu yani bir doz cevap eğrisinin olduğu gösterilmiştir. Nademane ve arkadaşları G-CSF in dozunun 5 ug/kg dan 10 ug/kg/güne çıkarılmasıyla periferde sirküle eden CD34+ hücre sayılarının 28 kat arttığını bildirmişlerdir (34). Sheridan ve arkadaşları 12 ile 24 ug/kg /gün G-CSF dozlarını kıyaslamışlar ve doz artımı ile toplanan CFU-GM sayılarının önemli

ölçüde arttığını bildirmişlerdir 35. Demirer ve arkadaşları 5, 10 ve 32 ug/kg/gün G-CSF dozlarını retrospektif olarak karşılaştırmışlar ve doz cevap etkisi olduğunu bildirmişlerdir (22). Aynı şekilde Zeller ve arkadaşları 10 ve 24 ug/kg/gün dozlarını karşılaştırmışlar ve doz artımı ile toplanan CD34+ hücre sayılarının önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir (36). G-CSF in yüksek dozlarda kullanımı ile daha fazla sayıda CD34+ hücre elde edildiği ve graftın daha hızlı tuttuğu gösterilmiştir.

Kök Hücrelerin Tümör Hücreleri ile Kontaminasyonu

Yapılan çalışmalar toplanan otolog kök hücrelerin altta yatan hastalığa bağlı tümör hücreleri ile kontamine olduğunu göstermiştir. Özellikle bu konu son dekat içerisinde meme, lenfoma ve MM için yapılan otolog transplantlar için gündeme gelmiştir (37-42). Brugger ve arkadaşları küçük hücreli akciğer veya metastatik meme kanserli hastalardan toplanan kök hücrelerde tümör kontaminasyonu olduğunu bildirmişlerdir (38). Toplanan kök hücrelerde tümöral kontaminasyonun sıklığı ve oranı altta yatan hastalığın derecesi ve yaygınlığı ile orantılı olmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalar göstermiştir ki MM li hastaların yaklaşık %50-67 sinde kök hücre toplama sırasında periferde sirküle eden malign plazma hücreleri vardır (41,43,44). Ancak otolog kök hücre transplantasyonlarında kontamine tümör hücrelerinin nüks oranlarına etkileri halen tartışılmakla ve araştırılmakla birlikte bugün bütün dünyada kök hücre ayıklama (purgıng) stratejileri üzerinde çalışmalar sürdürülmektedir (45). CD34+ seleksiyonu bugün dünyada bir çok transplant merkezinde kullanılmakta ve bazı teknikler ile %60 ın üzerinde purifikasyon sağlandığı bildirilmektedir (46). Bütün bunlara rağmen henüz ideal bir ayıklama tekniği geliştirilememiştir.

Sağlıklı Donörlerden Allojeneik Kök Hücre Toplanması

Son dekat içerisinde özellikle hematolojik malignitelerin küratif tedavisi amacı ile allojeneik kök hücre transplantasyonları önemli ölçüde bir ivme kazanmıştır (47-50). Allojeneik kök hücrenin kullanımı ile GVHD oranlarında anormal bir artış olmadığı ve kabul edilebilir sınırlar içerisinde olduğunun gösterilmesi, ve bu yöntemle graftın daha hızlı tutması nedeni ile son birkaç yıl içerisinde allojeneik kök hücre Kİ nin yerini almaya başlamıştır (18). Sağlıklı donörlere G-CSF 10 ug/kg/gün 5 gün boyunca subkutan veya IV verilerek 5 ve gerekirse 6. günlerde kök hücreler toplanmaktadır. Do-

nörlerin sağlıklı olması nedeni ile allojeneik kök hücre mobilizasyonu otologlardan daha kolay ve başarılı olmaktadır. Dreger ve arkadaşları 10 ug/kg/gün G-CSF vererek normal sağlıklı donörlerden median 5.5×10^6 /kg CD34+ hücre topladığını bildirmiştir (17). Almanyadan Schmitz ve arkadaşları sağlıklı donörlerden yine aynı dozda G-CSF kullanımı ile median 6.7×10^6 CD34+ hücre/kg elde ettiklerini bildirmişlerdir (19). Bu rakamlar bütün dünyada ve ülkemizde genellikle 5 ile 10×10^6 /kg aralığında değişmektedir.

Brown ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada düşük doz G-CSF kullanımının ve aferez öncesi periferde sirküle eden CD34+ hücre sayılarının düşük olduğu durumlarda normal donörlerden elde edilen CD34+ hücre sayılarının düştüğünü bildirmişlerdir (51). Bu çalışmada donörün cinsiyeti ve yaşının toplanan kök hücre sayısına bir etkisi olmadığı bildirilmiştir. Bishop ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada allojeneik kök hücre mobilizasyonunu etkileyen faktörler üzerinde durmuşlar ve yetersiz mobilizasyon veren donörleri tanımlamışlardır (52). Buna göre eğer bir sağlıklı donörden üst üste 2 aferezden sonra sadece 3×10^6 CD34+ hücre/kg veya daha azı toplanıyorsa bu durum yetersiz kök hücre mobilizasyonu olarak adlandırılmıştır. Bishop ve arkadaşları 5 ug/kg/gün G-CSF kullanmışlar ve donörlerin yaşı, cinsiyeti, CMV statusu, ağırlıkları, HLA sonuçları, tam kan ve flow sitometrik karakterlerini göz önüne almışlardır. Bu çalışmada G-CSF verilmeden önce perifer kanda düşük lenfosit ve monosit yüzdesi ile düşük absolut lenfosit sayısı olan donörlerde mobilizasyonun yetersiz olduğu görülmüştür (52). Ayrıca yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı, CMV statusu ve HLA özelliklerinin toplanan CD34+ hücre sayılarına bir etkilerinin olmadığını bildirmişlerdir (52). Özet olarak şunu söyleyebilirizki bazı yayınlarda hafif oranda, bazı yayınlarda ise önemli ölçüde artmış kronik GVHD oranlarına rağmen allojeneik kök hücre nakilleri bütün dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır.

İNFÜZYON

Kemik İliği (Kİ) İnfüzyonu

İnfüzyondan önce Kİ filtreden geçirilerek süzülmemelidir. Özellikle ABO uyumsuzluklarında bazan santrifügasyon işlemide yapılabilir. Ancak bu işlemler kök hücrelerde kayba yol açabileceğinden tecrübeli bir ekip tarafından yapılmalıdır. İnfüzyondan önce Kİ örneğinden kan sayımları ve CD34+ hücre sayımları ile bakteriyel kontaminasyon yönünden kültürler yapılır. Kİ genellikle oda

sıcaklığında taşınmalıdır. Ancak uzak merkezlere sevkiyat yapılması durumunda (12 saatten uzun süreli) + 4 derecede saklanması uygun olur. Toplama ve infüzyon arasındaki süre 24 saati geçmemelidir. Gerektiğinde Kİ dondurularak özel bir taşıyıcı içinde nakledilebilir. Kİ intravenöz olarak 1 saatlik bir süre içinde infüze edilir. İnfüzyon sırasında ve sonrasında vital bulguların monitorize edilmesi uygun olur.

Kemik İliği veya Kök Hücre İnfüzyonu

Otolog nakillerde kriyoprezervasyon ile saklanmış olan kök hücreler önce 37 derecede eritilirler. Takiben hasta başında infüzyon işlemine geçilir. İnfüzyon mümkün olduğunca hızlı yapılır. Eğer hastada bu sırada herhangi bir reaksiyon görülürse infüzyona ara verilir veya infüzyon yavaşlatılır. Bir sonraki infüzyon torbasına geçerken mevcut set serum fizyolojik ile flush edilir. DMSO toksisitesinden korunmak için 24 saat içinde bir hastaya eritilerek verilecek olan Kİ veya kök hücre miktarı 1000 ml yi geçmemelidir. Allojeneik Kİ veya kök hücre infüzyonlarında ise genellikle kriyoprezervasyon ve saklama işlemlerine gerek olmadığından infüzyon aynı gün yapılır. İnfüzyon sırasında her yarım saatte, infüzyondan sonra saat başı (4 saat) kan basıncı, solunum sayısı, ve nabız kontrolleri yapılmalıdır. Odada nazal oksijen ve kanülü ile gerektiğinde kullanılacak bir aspirasyon sistemi bulundurulmalıdır. İnfüzyon sırasında ve sonrasında bulantı, kusma, ateşi, titreme, nefes darlığı, bradikardi ve hipertansiyon gibi yan etkiler görülebilir. Bu reaksiyonları önlemek için her hastaya infüzyondan yaklaşık 1.5 saat önce önce hidrokortizon ve antihistaminikler verilir. Gerektiğinde kullanılmak üzere epinefrin hasta başında bulundurulur. İnfüzyondan sonra DMSO ya bağlı sarmısak benzeri bir koku hem hastanın nefesinde hemde oda içerisinde hissedilir. İnfüzyonu takip eden 24 saat içerisinde hastaya 4 litre dolayında serum fizyolojik veya dekstrozu serum fizyolojik verilmesi uygun olur.

KAYNAKLAR

1. Demirer T, Buckner CD, Appelbaum FR et al. Rapid engraftment after autologous transplantation utilizing marrow and recombinant granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood stem cells in patients with acute myelogenous leukemia. Bone Marrow Transplantation, 1995, vol:15, pp 915-922.
2. Demirer T, Petersen FB, Bensinger WI, et al. Autologous transplantation with peripheral blood stem cells collected after granulocyte colony-stimulating factor in patients with acute myelogenous leukemia.

- Bone Marrow Transplantation 1996, vol:18, pp 29-34.
3. Bensinger WI, Demirer T, Rowley S, et al. Factors predictive of rapid engraftment after peripheral blood stem cell infusions. *Bone Marrow Transplantation* 1995, Vol:15, suppl 3, pp S83-S85.
 4. Rowley SD, Zuehlendorf M, Braine HG et al. CFU-GM content of bone marrow graft correlates with time to hematologic reconstitution following autologous bone marrow transplantation with 4-hydroperoxycyclophosphamide-purged bone marrow. *Blood* 1987, 70:271-275.
 5. Demirer T, Bensinger WI. Optimization of peripheral blood stem cell collection. *Current Opinion in Hematology* 1995, Vol:2, pp 219-226.
 6. Emminger W, Emminger-Schmidmeier W, Hocker P et al. Myeloid progenitor cells (CFU-GM) predict engraftment kinetics in autologous transplantation in children. *Bone Marrow Transplantation* 1989, 4:415-420.
 7. Bensinger WI, Longin K, Appelbaum F et al. Peripheral blood stem cells (PBSCs) collected after recombinant granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF): an analysis of factors correlating with the tempo of engraftment after transplantation. *Br J Haematol* 1994, 87:825-831.
 8. Bensinger WI, Appelbaum FR, Rowley S et al. Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral blood stem cells. *J. Clin Oncol* 1995, Vol:13, No: 10, pp 2547-2555.
 9. Bender JG, To LB, Williams S et al. Defining a therapeutic dose of peripheral blood stem cells. *Journal of Hematotherapy* 1992, 1:329-341.
 10. Weaver CH, Birch R, Schwartzberg L et al. CD34 content of peripheral blood progenitor cells (PBPC) is the single most powerful predictor of recovery kinetics in patients receiving myeloablative high-dose chemotherapy and PBPC infusion. *Blood* 1994, 84: (Supplement 1, Abstr:1388).
 11. Smith R, Sweetenham JW. A mononuclear cell dose of 3×10^8 /kg is sufficient to predict early multilineage engraftment in patients undergoing high dose therapy and transplantation with cryopreserved peripheral blood progenitor cells for malignant lymphoma. *Blood* 1994, 84: (Supplement 1, Abstr:364).
 12. Schwartzberg L, Birch R, Blanco R et al. Rapid and sustained hematopoietic reconstitution by peripheral blood stem cell infusion alone following high-dose chemotherapy. *Bone Marrow Transplant* 1993, 11:369-374.
 13. Tricot G, Jagannath S, Vesole D et al. Peripheral blood stem cell transplants for multiple myeloma: Identification of favorable variables for rapid engraftment in 225 patients. *Blood* 1995, 85:588-596.
 14. Haas R, Mohle R, Fruhauf S et al. Patient characteristics associated with successful mobilizing and autografting of peripheral blood progenitor cells in malignant lymphoma. *Blood* 1994, 83:3787-3794.
 15. Siena S, Bregni M, Brando B et al. Flow cytometry for clinical estimation of circulating hematopoietic progenitors for autologous transplantation in cancer patients. *Blood* 1991, 77:400-409.
 16. Demirer T, Buckner CD, Gooley T et al. Factors influencing collection of peripheral blood stem cells in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplantation* 1996, Vol:17, 937-941.
 17. Dreger P, Haferlach T, Eckstein V et al. G-CSF mobilized peripheral blood progenitor cells for allogeneic transplantation: safety, kinetics of mobilization, and composition of the graft. *Br J Haematol* 1994, 87:609-613.
 18. Bensinger WI, Weaver CH, Appelbaum FR et al. Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony stimulating factor. *Blood* 1995, 85:1655-1658.
 19. Schmitz N, Dreger P, Suttorp M et al. Primary transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor cells mobilized by filgrastim (Granulocyte colony-stimulating factor). *Blood* 1995, 85:1666-1672.
 20. Elias AD, Ayash L, Anderson KC et al. Mobilization of peripheral blood progenitor cells by chemotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for hematologic support after high-dose intensification for breast cancer. *Blood* 1992, 79:3036-3044.
 21. Dreger P, Marquardt P, Haferlach T et al. Effective mobilization of peripheral blood progenitor cells with Dexamethasone-BEAM and G-CSF-timing of harvesting and composition of the leukapheresis product. *Br J Cancer* 1993, 68: 5:950-957.
 22. Demirer T, Buckner CD, Bensinger WI et al. Optimization of peripheral blood stem cell mobilization. *Stem Cells* 1996, Vol:14, pp 106-116.
 23. Hohaus S, Goldschmidt H, Ehrhardt R et al. Successful autografting following myeloablative conditioning therapy with blood stem cells mobilized by chemotherapy plus rhG-CSF. *Exp Hematol* 1993, 21: 4:508-514.
 24. Passos-Coelho JL, Braine HG, Davis JM, et al. Predictive factors for peripheral- blood progenitor-cell collections using a single large-volume leukapheresis after cyclophosphamide and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor mobilization. *J Clin Oncol*. 1995, 13:705-714
 25. Demirer T, İlhan O, Aylı M, et al. Monitoring of peripheral blood CD34+ cell counts on the first day of apheresis is highly predictive for efficient CD34+ cell yield. *Therapeutic Apheresis*, October, 2002, Vol:6 (5), pp 384-389.
 26. Demirer T, Buckner CD, Storer B et al. Effect of different chemotherapy regimens on peripheral-blood stem-cell collections in patients with breast cancer receiving granulocyte colony-stimulating factor. *Journal of Clinical Oncology* 1997, Vol: 15, No:2, pp 684-690.
 27. Sica S, Dimario A, Salutari P et al. Sequential peripheral blood progenitor cell transplantation after mobilization with salvage chemotherapy and G-CSF in patients with resistant lymphoma. *Am J Hematol* 1994, 46: 1:18-23.

28. Sutherland HJ, Eaves CJ, Lansdorp PM et al. Kinetics of committed and primitive blood progenitor mobilization after chemotherapy and growth factor treatment and their use in autotransplants. *Blood* 1994, 83:3808-3814.
29. Demirer T, Bensinger WI, Buckner CD: Peripheral Blood stem cell mobilization for high dose chemotherapy. *Journal of Hematotherapy*, 1999, Vol:8, pp 103-113.
30. Demirer T, Buckner CD, Bensinger WI et al. Peripheral blood stem cell (PBSC) collections after taxol, cyclophosphamide and recombinant human granulocyte-colony stimulating Factor (rhG-CSF). *Journal of Clin Oncol* 1995, vol 13, no 7, pp:1714-1719.
31. Demirer T, Ayli M, Ozcan M, et al. Mobilization of peripheral blood stem cells with chemotherapy and recombinant human granulocyte-colony stimulating factor (Rh-GSCF): A randomized evaluation of different doses of Rh-GSCF. *British Journal of Hematology*, 2002. Vol: 116, pp 468-472.
32. Bolwell BJ, Fishleder A, Andresen SW et al. G-CSF primed peripheral blood progenitor cells in autologous bone marrow transplantation: parameters affecting bone marrow engraftment. *Bone Marrow Transplant* 1993, 12:609-614.
33. Bacigalupo A, Piaggio G, Podesta MT et al. Collection of peripheral blood hematopoietic progenitors (PBHP) from patients with severe aplastic anemia (SAA) after prolonged administration of granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1993, 82:1410-1414.
34. Nademanee A, Sniecinski I, Schmidt GM et al. High-dose therapy followed by autologous peripheral-blood stem-cell transplantation for patients with Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma using unprimed and granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral-blood stem cells. *J Clin Oncol* 1994, 12:2176-2186.
35. Sheridan W, Begley G, Juttner C et al. Effect of different doses and schedules of filgrastim on mononuclear cell and PBPC collections and hematopoietic recovery after high dose chemotherapy and infusion of filgrastim mobilized PBPC without bone marrow. *American Society of Hematology* 1992 (abstr 1315):331a.
36. Zeller W, Cassens U, Stockschlader M et al. Higher dose of G-CSF increases yield of mobilized CD34+ cells. *Blood* 94, 84: (Supplement 1, Abstr:413).
37. Bishop MR, Vose JM, Bierman PJ et al. Phase I trial of PIXY 321 for peripheral stem cell mobilization in patients with lymphoid malignancies. *Exp Hematol* 1994, 22: (Abstr: 369).
38. Brugger W, Bross KJ, Glatt M et al. Mobilization of tumor cells and hematopoietic progenitor cells into peripheral blood of patients with solid tumors. *Blood* 1994, 83:636-640.
39. Ross AM, Cooper BW, Lazarus HM et al. Detection and viability of tumor cells in peripheral blood stem cell collections from breast cancer patients using immunocytochemical and clonogenic assay techniques. *Blood* 1993, 82:2605-2610.
40. Vora AJ, Toh CH, Peel J et al. Use of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) for mobilizing peripheral blood stem cells: risk of mobilizing clonal myeloma cells in patients with bone marrow infiltration. *Br J Haematol* 1994, 86:180-182.
41. Gibson J, Pope B, Petersen A et al. G-CSF stimulated PBSC harvests in myeloma contain immature malignant plasma cells. *Blood* 1994, 84: (Supplement 1, Abstr:422).
42. Brockstein B, Ross A, Hollingsworth K, et al. Tumor cell contamination of bone marrow harvest products: clinical consequences in a cohort of advanced breast cancer patients undergoing high-dose chemotherapy. *ASCO* 1995, 14:327 (abstr:975).
43. Owen RG, Child JA, Rawson A et al. Detection of contaminating cells in PBPC harvests and the efficacy of CD34 selection in patients with multiple myeloma. *Blood* 1994, 84:(Supplement 1, Abstr:1392).
44. Witzig TE, Gertz MA, Pineda AA et al. Detection of monoclonal plasma cells in the peripheral blood stem cell harvests of patients with multiple myeloma. *Blood* 1994, 84: (Supplement 1, Abstr:1393).
45. Rill DR, Moen RC, Buschle M et al. An approach for the analysis of relapse and marrow reconstitution after autologous marrow transplantation using retrovirus-mediated gene transfer. *Blood* 1992, 79:2694-2700.
46. Shpall EJ, Jones RB, Bearman SI et al. Transplantation of enriched CD34-positive autologous marrow into breast cancer patients following high-dose chemotherapy: influence of CD34-positive peripheral blood progenitors and growth factors on engraftment. *Journal of Clinical Oncology* 1994, 12:28-36.
47. Bensinger WI, Price TH, Dale DC et al. The effects of daily recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration on normal granulocyte donors undergoing leukapheresis. *Blood* 1993, 81:1883-1888.
48. Bensinger WI, Appelbaum FR, Demirer T et al. Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells. *Stem Cells* 1995, Vol:13, Suppl 3, pp 63-70.
49. Weaver CH, Buckner CD, Longin K et al. Syngeneic transplantation with peripheral blood mononuclear cells collected after the administration of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1993, 82:1981-1984.
50. Lane TA, Law P, Maruyama M, et al. Mobilization of peripheral blood stem cells in normal donors by G-CSF and GM-CSF: potential role in allogeneic marrow transplantation. *ASCO* 1995, 14:74 (abstr:2).
51. Brown RA, Adkins D, Goodnough LT et al. Factors that influence the collection and engraftment of allogeneic peripheral-blood stem cells in patients with hematologic malignancies. *Journal of Clinical Oncology* 1997, Vol:15, No:9, pp 3067-3074.
52. Bishop MR, Tarantolo SR, Bierman PJ et al. Predictive factors for the identification of allogeneic blood stem cell donors as poor mobilizers prior to stem cell collection. *Blood* 1997, Vol:90, No:10, Suppl 1, abstr 2632, pp 592 a.