



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**



**ERİŞKİN AKUT LÖSEMİ HASTALARINDA
ALLOJENEİK HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE NAKLİ SONRASI TAKİPTE
ÖLÇÜLEBİLİR KALINTI HASTALIK VE KİMERİZM TAKİBİNİN
NÜKSÜ ÖNGÖRMEDE ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Sinem Başak TAN ÖKSÜZ

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Selami Koçak TOPRAK

ANKARA

2022

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ERİŞKİN AKUT LÖSEMİ HASTALARINDA
ALLOJENEİK HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE NAKLİ SONRASI TAKİPTE
ÖLÇÜLEBİLİR KALINTI HASTALIK VE KİMERİZM TAKİBİNİN
NÜKSÜ ÖNGÖRMEDE ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Sinem Başak TAN ÖKSÜZ

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Selami Koçak TOPRAK**

**ANKARA
2022**

Ankara Üniversitesi
Tıp Fakóltesi Dekanlığı'na,

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Erişkin Akut Lösemi Hastalarında Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli Sonrası Takipte Ölçülebilir Kalıntı Hastalık ve Kimerizm Takibinin Nüksü Öngörmede Etkinliklerinin Karşılaştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımda yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler Ankara Üniversitesi İnsan Araştırmaları Etik Kurulu tarafından 01.06.2021 tarihinde İ5-340-21 numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Sinem Başak Tan Öksüz

Tarih: 14.03.2022

İmza:

ÖZGÜNLÜK RAPORU

Doküman Görüntüleyici

Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme kondu: 05-Nis-2022 22:21 +03
NUMARA: 1802690677
Kelime Sayısı: 11463
Gönderildi: 1

Erişkin Akut Lösemi Hastalarında Allojeneik H... Sinem Başak
Tan Öksüz tarafından

Benzerlik Endeksi		Kaynağa göre Benzerlik	
%7		Internet Sources:	%5
		Yayınlar:	%4
		Öğrenci Ödevleri:	%2

KABUL ONAY SAYFASI

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN	
Adı, Soyadı: Sinem Başak TAN ÖKSÜZ	Sınav tarihi: 15 /04/ 2022
Anabilim/Bilim Dalı: İç Hastalıkları ABD / Hematoloji BD	
Tez Danışmanı: Doç Dr Selami Koçak Toprak	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER
Tezin Başlığı: Erişkin Akut Lösemi Hastalarında Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli Sonrası Takipte Ölçülebilir Kalıntı Hastalık ve Kimerizm Takibinin Nüksü Öngörmede Etkinliklerinin Karşılaştırılması
Tezin Niteliği: ☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu: ☒ 1 ☐ 2 ☐ 3

III. KARAR
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin “Tıpta Uzmanlık Tezi” olarak ☒ Kabulüne ☐ Reddine ☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine ☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

IV. AÇIKLAMALAR
<i>Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız.</i>

Jüri Başkanı
Prof. Dr. Osman İLHAN
Hematoloji Bilim Dalı

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Selami Koçak TOPRAK
Hematoloji Bilim Dalı

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Ümit Yavuz MALKAN
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Hematoloji Bilim Dalı

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim sırasında ve tez çalışmalarım döneminde yoğun iş temposu arasında bana ayırdığı değerli vakti, desteği ve yol göstericiliği için değerli tez danışmanım Doç. Dr. Selami Koçak TOPRAK'a,

Tıpta uzmanlık eğitimimde emeği geçen tüm saygıdeğer öğretim üyelerimize,

Yoğun iş temposuna rağmen tez hazırlama sürecinde sorularım olduğunda beni her zaman sabır ve gülyüz ile karşılayan, çalışkanlığıyla kendime örnek aldığım Öğr. Gör. Dr. Güldane Cengiz SEVAL'e,

Özellikle istatistik alanında desteklerini esirgemeyen, uzmanlık eğitimim sırasında pratik bilgi ve deneyimlerini keyifle paylaşan Uzm. Dr. Serdar SEZER'e,

Asistanlığımın ilk gününden bu yana desteğini asla sakınmayan, keyifli bir çalışma dönemi geçirmemi sağlayan başta sevgili eşim Dr. Nejat Emre ÖKSÜZ olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma,

Her zaman desteklerini ve bana olan inançlarını yanımda hissettiğim sevgili aileme,

Teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	i
Özgünlük Raporu	ii
Kabul Onay Sayfası	iii
Önsöz	iv
İçindekiler	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller Dizini	viii
Tablolar Dizini	ix
1.TÜRKÇE ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	6
4.1. Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli	6
4.1.1.Hemaopoietik Kök Hücre Kaynakları	6
4.1.2. Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli Öncesi Hasta Seçimi	6
4.1.3. Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakil Süreci	7
4.1.4. Akut Lösemilerin Tedavisinde Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli	7
4.1.5. Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli Sonrası Komplikasyonlar	8
4.1.6. Graft-versus-Host Hastalığı	8
4.1.7. Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli Sonrası Hastalık Nüksü	9
4.2. Ölçülebilir Kalıntı Hastalık	10
4.2.1. Ölçülebilir Kalıntı Hastalık Analizinde Hücre Kaynağı	11
4.2.2. Ölçülebilir Kalıntı Hastalık Analizinde Kullanılan Yöntemler	11
4.3.Kimerizm	13
4.3.1. Kimerizm Tipleri	13
4.3.2. Kimerizm Analizinde Hücre Kaynağı	14
4.3.3. Kimerizm Analizinde Kullanılan Yöntemler	14
5. GEREÇ VE YÖNTEM	16
5.1. Araştırma Tasarımı ve Hastalar	16
5.2. Tanımlar ve Sınıflandırmalar	16
5.3. Kimerizm, Akım Sitometri ve Moleküler Ölçülebilir Kalıntı Hastalık Anlizi	17

5.3. İstatistiksel Analiz	17
6. BULGULAR	19
6.1. Hastaların Tanımlayıcı Özellikleri	19
6.2. AHKHN Sonrası Hastalık Nüksü	20
6.3. AHKHN Sonrası Kimerizm İzlemi	24
6.4. AHKHN Sonrası Multiparametrik Akım Sitometri ile ÖKH İzlemi	26
6.5. AHKHN Sonrası Moleküler ÖKH İzlemi	28
6.6. AHKHN Sonrası Ekstramedüller Nüks	29
6.7. AHKHN Sonrası Nüksü Öngörmede Risk Faktörlerinin Karşılaştırılması	30
6.8. AHKHN sonrası Kimerizm ve Akım Sitometri ile ÖKH Sonuçlarının Sağkalım Üzerine Etkisi	31
7. TARTIŞMA	36
8. SONUÇ ve ÖNERİLER	41
9. KAYNAKLAR	42

SİMGELER VE KISALTMALAR

aGVHH	: Akut graft versus lösemi hastalığı
AHKHN	: Allojeneik hematopoietik kök hücre nakli
ALL	: Akut lenfoblastik lösemi
AML	: Akut miyeloid lösemi
ATG	: Anti-timosit globulin
CAR	: Kimerik antijen reseptörü
DFN	: Normalden farklı
DLI	: Donör lenfosit infüzyonu
GA	: Güven aralığı
FISH	: Floresan in situ hibridizasyon
GVHH	: Graft versus host hastalığı
GvL	: Graft versus lösemi
HLA	: İnsan lökosit antijeni
INDEL	: İnsersiyon ve delesyonlar
Ig/TCR	: İmmünoglobulin / T hücre reseptörü
kGVHH	: Kronik graft versus lösemi hastalığı
KK	: Karma kimerizm
LAIP	: Lösemi ilişkili immünofenotiplendirme
MAC	: Miyeloablatif hazırlık rejimi
MFC	: Multiparametrik akım sitometri
MKH	: Minimal kalıntı hastalık
NGS	: Yeni nesil gen sekanslama
NMA	: Nonmiyeloablatif hazırlık rejimi
ÖKH	: Ölçülebilir kalıntı hastalık
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RIC	: Yoğunluğu azaltılmış hazırlık rejimi
RT-qPCR	: Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
STR	: Kısa ardışık dizi tekrarları
TK	: Tam kimerizm
TR	: Tam remisyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 6.1: AML hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ayrışmamış karma kimerizmin ile genel sağkalım ilişkisi	31
Şekil 6.2: AML hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ÖKH pozitifliği ile genel sağkalım ilişkisi	32
Şekil 6.3: AML hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ayrışmamış karma kimerizmin ile nüksüz sağkalım ilişkisi	32
Şekil 6.4: AML hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ÖKH pozitifliği ile nüksüz sağkalım ilişkisi	33
Şekil 6.5: ALL hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ayrışmamış karma kimerizmin ile genel sağkalım ilişkisi	33
Şekil 6.6: ALL hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ÖKH pozitifliği ile genel sağkalım ilişkisi	34
Şekil 6.7: ALL hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ayrışmamış karma kimerizmin ile nüksüz sağkalım ilişkisi	34
Şekil 6.8: ALL hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ÖKH pozitifliği ile nüksüz sağkalım ilişkisi	35

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1: ÖKH yöntemlerinin karşılaştırılması	13
Tablo 4.1: Kimerizm yöntemlerinin karşılaştırılması	15
Tablo 6.1: Çalışmaya dahil edilen hastaların tanımlayıcı özellikleri.....	20
Tablo 6.2: AHKHN sonrası nüks gelişen ve nüks gelişmeyen AML ve ALL hastalarının karşılaştırmalı değerlendirilmesi	23
Tablo 6.3: AML ve ALL hastalarının AHKHN sonrası kimerizm sonuçlarının değerlendirilmesi	24
Tablo 6.4: AHKHN sonrası nüks gelişen ve nüks gelişmeyen AML hastalarının kimerizm sonuçlarının karşılaştırmalı değerlendirilmesi	25
Tablo 6.5: AHKHN sonrası nüks gelişen ve nüks gelişmeyen ALL hastalarının kimerizm sonuçlarının karşılaştırmalı değerlendirilmesi	26
Tablo 6.6: AML ve ALL hastalarının AHKHN sonrası akım sitometri ile ÖKH sonuçlarının değerlendirilmesi	27
Tablo 6.7: AHKHN sonrası nüks gelişen ve nüks gelişmeyen AML ve ALL hastalarının akım sitometri ile ÖKH sonuçlarının karşılaştırmalı değerlendirilmesi.....	28
Tablo 6.8: AHKHN sonrası nüks gelişen ve gelişmeyen AML ve ALL hastalarında moleküler ÖKH pozitifliğinin karşılaştırılması.....	29
Tablo 6.9: AML hastalarında AHKHN sonrası nüks gelişiminde rolü olan faktörlerin değerlendirilmesi	30
Tablo 6.10: ALL hastalarında AHKHN sonrası nüks gelişiminde rolü olan faktörlerin değerlendirilmesi	30

1. TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Allojeneik hematopoietik kök hücre nakli (AHKHN) akut lösemi hastaları için küratif bir tedavi seçeneğidir. Ancak nakil sonrası nüks gelişmesi tedavi başarısızlığının en önemli nedenidir. Nakilden sonra kimerizmi düzeylerinin ve ölçülebilir kalıntı hastalık (ÖKH) izleminin nüks tespiti için yararlı yöntemler oldğuna ilişkin kanıtlar artmaktadır. Ancak bu iki yaklaşımdan hangisinin en iyi bilgilendirmeyi sağladığı belirsizliğini korumaktır. Çalışmamızda akut miyeloid lösemi (AML) ve akut lenfoblastik lösemi (ALL) hastalarının nakil sonrası süreçte kimerizm ve ile ÖKH değerlendirilme sonuçlarının nüksü öngörmedeki etkilerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı Kemik İliği Nakil Ünitesi'nde 2010-2021 yılları arasında akut lösemi nedeniyle AHKHN yapılmış, 28.gün kontrolünde morfolojik tam yanıt izlenen olan hastalar (n=264) retrospektif olarak araştırmaya alınmıştır. AHKHN sonrası 28. gün, 2., 3., 6. ve 12. aylardaki STR-PCR ile değerlendirilen ayırmamış ve T-hücre kimerizm yüzdeleri, AHKHN sonrası 28. gün, 3. ve 12. aylardaki multiparametrik akım sitometri (MFC) ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) ile değerlendirilen ÖKH sonuçları değerlendirilmiştir.

Bulgular: Nüks gelişen ve gelişmeyen AML hastaları kıyaslandığında nüks gelişen hastalarda 3. ayda (%55,2 vs %22, $p<0,001$) ve 12. ayda (%54,3 vs %9,8, $p<0,001$) akım sitometri ile ÖKH pozitifliği, 3.ay (%33,3 vs %8,8 $p<0,001$), 6. ay (%32 vs %11,8, $p=0,007$) ve 12. ayda (%36,1 vs %2,9, $p<0,001$) ise karma kimerik olan hasta oranının istatistiksel açıdan nüks gelişmeyen hastalardan daha yüksek olduğu saptandı. Nüks gelişen 68 AML hastası değerlendirildiğinde MFC ile ÖKH pozitifliği astaların 41'inde (%60,29 [%95 GA:%47,70 - %71,97]), STR-PCR ile karma kimerizm saptanması ise hastaların 26'sında (%38,24 [%95 GA: %26,71-%50,82]) nüksü öngörebildi. Moleküler ÖKH verisi olan 19 hastanın 14'ünde (%73,68) nüks gelişmeden önce moleküler ÖKH pozitifliği görüldü. Çok değişkenli analizde AML hastalarında nakil öncesi aktif hastalık (HR:3,47, %95 GA:1,53-7,83, $p=0,003$), 3. ay ayırmamış karma kimerizm (HR:2,47, %95 GA:1,10-5,56, $p=0,029$) ve 3. ay akım sitometride ÖKH pozitifliği (HR:3,69, %95 GA:1,84-7,41, $p<0,001$) nüks için bağımsız risk faktörü olarak bulundu. ALL hastaları değerlendirildiğinde nüks gelişen hastalarda 3. ayda (%66,7 vs %41,5, $p=0,05$) ÖKH pozitifliği, 3. ay (%50 vs %3,8, $p<0,001$) ve 6 ayda (%31,3 vs %3,1 $p=0,012$) ise karma kimerik olan hasta oranının istatistiksel açıdan nüks gelişmeyen hastalardan daha yüksek olduğu saptandı. Nüks gelişen 27 ALL hastası değerlendirildiğinde MFC ile ÖKH

pozitifliği ile hastaların 15'inde (%55,56 [%95 GA:%35,33 - %74,52]), STR-PCR ile karma kimerizm saptanması ise hastaların 10'unda (%37,04 [%95 GA:%19,40 - %57,63]) nüksü ön görebildi. Moleküler ÖKH verisi olan 7 hastanın 5'inde (%71,4) nüks gelişmeden önce moleküler ÖKH pozitifliği görüldü. ALL hastalarında veriler çok değişkenli analiz ile değerlendirildiğinde yalnızca T-ALL tanısı (HR:3,94, %95 GA:1,29-12,09, p=0,016) nüks için bağımsız bir risk faktörü olarak bulundu.

Sonuç: Nüks olan AML hastalarında ÖKH varlığı nüksü karma kimerizme kıyasla daha yüksek duyarlılıkta saptamıştır. 3. ayda saptanan ÖKH varlığı ve ayrışmamış karma kimerizm nüks gelişimi, genel sağkalım ve nüksüz sağkalım açısından prognostik öneme sahiptir. Nüks gelişiminde etkili olan prognostik faktörler değerlendirildiğinde 3. ayda ÖKH saptanmasının nüks riskini en çok artıran faktör olduğu bulunmuştur. Nüks olan ALL hastalarında ÖKH varlığı nüksü karma kimerizme kıyasla daha yüksek duyarlılıkta saptamıştır. AML'nin aksine 3. ayda saptanan ÖKH varlığı ve ayrışmamış karma kimerizm nüks gelişimi, genel sağkalım ve nüksüz sağkalım için prognostik bir risk faktörü olarak bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Akut lösemi, allojeneik hematopoietik kök hücre nakli, multiparametrik akım sitometri, ölçülebilir kalıntı hastalık, kimerizm

2. ABSTRACT

Objective: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (AHSCT) is a curative treatment option for patients with acute leukemia. However, relapse of underlying disease after transplantation is still the most important cause of treatment failure. Both donor chimerism and measurable residual disease (MRD) monitoring are useful techniques for post-transplant relapse detection. However, it remains unclear which of these two techniques provides the best information. In our study, it was aimed to compare the effects of post-transplant chimerism and MRD monitoring in predicting relapse of acute myeloid leukemia (AML) and acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients.

Materials and Methods: Patients (n=264) who underwent AHSCT due to acute leukemia in Ankara University Faculty of Medicine, Department of Hematology, Bone Marrow Transplantation Unit between 2010-2021 and who had a morphological complete response at the 28th day follow-up were included in the study. Chimerism analysis by STR-PCR at day 28 and 2nd, 3rd, 6th, 12th month and MRD analysis by either MFC or RT-qPCR at day 28 and 3rd, 12th month of post transplantation period was evaluated.

Results: Comparing the relapsed and non-relapsed AML patients, rate of patients with positive MRD at 3rd month (55.2% vs 22%, $p<0.001$) and 12th month (54.3% vs 9.8%, $p<0.001$) was higher in relapsed group. Rate of patients with mixed chimerism at 3rd month (33.3% vs 8.8% $p<0.001$), 6th month (32% vs 11.8%, $p=0.007$) and 12th month (36.1% vs. 2%), 9, $p<0.001$), was statistically higher in relapsed patients than non-relapsed patients. Evaluating 68 AML patients who relapsed after transplantation, MRD positivity was detected by MFC in 41 of the patients (60.29% [95% CI: 47.70% - 71.97%]) and mixed chimerism was detected by STR-PCR in 26 patients (%). 38.24 [95% CI: 26.71%-50.82%]) before relapse occurred. Molecular MRD positivity was observed in 14 (73.68%) of 19 patients with molecular MRD data before relapse. Pre-transplant active disease (HR:3.47, 95% CI: 1.53-7.83, $p=0.003$), mixed chimerism at 3rd month (HR: 2.47, 95% CI: 1.10-5.56, $p=0.029$) and positive MRD at 3rd month (HR:3.69, 95% CI:1.84-7.41, $p<0.001$) were found to be independent risk factors for relapse. When ALL patients were evaluated, rate of patients with positive MRD at 3rd month (66.7% vs 41.5%, $p=0.05$) and patients with mixed chimerism at 3rd month (50% vs 3.8%, $p<0.001$) and 6th month (% 31.3 vs 3.1% $p=0.012$) was found to be statistically higher in patients who relapsed after transplantation. Evaluating 27 patients with relapsed ALL, positive MRD was detected by MFC in 15 of the patients (55.56% [95% CI: 35.33% - 74.52%]), and mixed chimerism was detected by STR-PCR in 10 patients (37.04% [95% CI: 19.40% -

57.63%]) before relapse occurred. Molecular MRD positivity was observed in 5 (71.4%) of 7 patients with molecular MRD data before relapse. When the data in ALL patients were evaluated by multivariate analysis, only the diagnosis of T-ALL (HR:3.94, 95% CI:1.29-12.09, $p=0.016$) was found to be an independent risk factor for relapse.

Conclusion: In patients with relapsed AML, the presence of MRD predicted relapse with higher sensitivity compared to mixed chimerism. Positive MRD and mixed chimerism at 3rd month have prognostic importance in terms of overall survival and relapse-free survival. When the prognostic factors for relapse were evaluated, it was found that the detection of positive MRD at the 3rd month increased the risk of relapse the most. Positive MRD predicted relapse with higher sensitivity compared to mixed chimerism in ALL patients. In contrast to AML, the positive MRD and mixed chimerism at 3rd month were not found to be prognostic risk factors for relapse, overall survival, and relapse-free survival.

Key Words: Acute leukemia, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, multiparametric flow cytometry, measurable residual disease, chimerism

3. GİRİŞ VE AMAÇ

AHKHN akut lösemiler için hayat kurtarıcı bir tedavi yöntemidir. Son yıllarda tedavi ilişkisi mortalite azalmakla beraber, nüks AHKHN sonrası en sık ölüm nedeni olarak öne çıkmaktadır. Hematolojik nüks sonrası kurtarma tedavileri çoğunlukla mortal sonuçlanmakla birlikte, çalışmalar lösemi yükünün düşük olduğu erken dönemde müdahalenin etkili olabileceğini göstermiştir. Bu müdahaleler arasında hipometile edici ajanların kullanımı, yoğun kemoterapi, hedefe yönelik ajanlar, ikinci AHKHN, immünsupresyon düzenlenmesi ve donör lenfosit infüzyonları (DLI) bulunmaktadır.

Nüksün erken tespiti için günümüzde kullanılan iki temel yöntem verici kimerizminin takibi ve ÖKH varlığının incelenmesidir. Kimerizmin saptanmasındaki temel ilke, çok çeşitli moleküler ve hücresel biyoloji teknikleri aracılığıyla verici ve alıcı hücreler arasındaki genetik ve fenotipik farklılıkların analizidir. PCR tabanlı STR analizi, klinik laboratuvarlarda kimerizmi değerlendirmek için en yaygın kullanılan yöntemdir (1). MFC veya RT-qPCR'a dayalı tanı yöntemleriyle gerçekleştirilen ÖKH analizi ise morfolojik nüks kanıtı yokluğunda erken AHKHN sonrası düşük seviyeli lösemi varlığını tespit etmek için kullanılır (2, 3). ÖKH ile kalıntı veya yeniden ortaya çıkan lösemi klonları direk saptanırken kimerizm analizi kalıntı veya yeniden ortaya çıkan alıcı hematopoiezini gösterir. Spesifik bir ÖKH belirteci ile taşıyan hastalarda, nüksün erken tespitinin ÖKH tespitine dayanması ile birlikte, bu belirteçler nüks durumunda kaybolabileceğinden, azalan bir verici kimerizmi, nakil sonrası hastalık nüksün ilk işareti olabilir. Literatürde nakil sonrası takipte ÖKH pozitifliği saptanması veya karma kimerizm bulunmasının artmış nüks riski, azalmış genel ve hastalıksız sağkalım ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar artmaktadır (4-7).

Klinik pratikte hem kimerizm hem de ÖKH akut lösemi hastalarının AHKHN sonrası izleminde kullanılmakta olup, nüksü saptamada birbirleriyle kıyaslandıkları çalışmalar sınırlıdır ve referans yöntem belirlenememiştir. Çalışmamızda AML ve ALL hastalarının nakil sonrası süreçte kimerizm izlemi ve akım sitometri ile ÖKH değerlendirilme sonuçlarının nüksü öngörmedeki etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli

AHKHN, kemik iliğinden kaynaklanan malign ve non-malign hastalıkların tedavisinde hayat kurtarıcı bir seçenektir. AHKHN'in potansiyel faydaları, hem miyeloablatif kemoradyoterapiden hem de graft-versus-lösemi (GvL) olarak adlandırılan alıcının kemik iliğinde kalan lösemik hücrelere karşı yönlendirilen verici lenfositlerin immün aracılı reaksiyonundan kaynaklanmaktadır (8). AHKHN'i diğer tedavi yöntemlerinden ayıran GvL etkisi, kısa ve uzun dönemde toksisitelere neden olsa da lösemi tedavisinde oldukça etkin bir mekanizmadır.

4.1.1. Hemaopoietik Kök Hücre Kaynakları

Hematopoietik kök hücre kaynakları kemik iliği, periferik kan ve umbilikal kord kanıdır. Hematopoietik kök hücreler hücreleri hastanın kendisinden (otolog nakil) veya kardeş veya akraba olmayan bir verici (allojenik nakil) veya tek yumurta ikizi (singeneik nakil) gibi başka bir kişiden alınabilir. AHKHN için verici seçeneklerini tam uyumlu akraba verici, tam uyumlu olmayan akraba verici, tam uyumlu akraba dışı verici ve haploidentik vericiler oluşturmaktadır. AHKHN uygulanan hastalar için tercih edilen verici, insan lökosit antijeni (HLA) uyumlu kardeş veya akraba dışı vericidir. Bununla birlikte, nakil yapılabilen yaş grubundaki hastaların %25'inden azında HLA uyumlu kardeş vericileri vardır. Haploidentik vericiler veya umbilikal kord kanı kullanımı allojeneik nakiller için verici havuzunu genişleterek AHKHN'i daha geniş bir hasta popülasyonu için uygulanabilir kılmıştır (9, 10).

4.1.2. Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli Öncesi Hasta Seçimi

Nakil öncesi uygunluk değerlendirmesi hastalık ve hasta ile ilişkili birçok faktörün değerlendirmesini içeren karmaşık, çok yönlü ve çok disiplinli bir süreçtir. Altta yatan hastalığın ciddiyeti ve remisyon durumu belirlenir ve hastanın nakille ilgili komplikasyonlar üzerinde etkisi olması muhtemel komorbiditeleri göz önüne alınır. Hastanın komorbiditeleri hazırlık rejimi seçimini etkiler. Bu durum yalnızca beklenen toksisitelerle değil, aynı zamanda nakil dışı tedavilerle karşılaştırıldığında potansiyel etkinlikle de yakından bağlantılıdır (11).

4.1.3. Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakil Süreci

AHKHN öncesi hazırlık dönemi 7-14 gün süren; malign hücreleri ortadan kaldırmak, yeni kök hücrelere yer açmak ve kök hücrelerin reddini önlemek için kemoterapi, immünoterapi ve/veya radyoterapi uygulamalarını içerir. Kemik iliğindeki tüm kanser hücrelerini öldürmeyi amaçlayan tedaviler miyeloablatif rejimler (MAC) olarak adlandırılır. Bu hazırlık rejimi derin bir pansitopeni ile sonuçlanır ve hematopoietik kök hücrelerin infüzyonu ile hematopoez yeniden başlatılamadığı sürece genellikle geri döndürülemez. Tüm kanser hücrelerini öldürmeyen belirgin bir lenfopeni yaparken tek başına minimal sitopeni ile sonuçlanan non-miyeloablatif rejimlerde (NMA) ise nakil sonrası verici T hücrelerinin alıcının hematopoietik hücrelerini ortadan kaldırarak alıcı hematopoezinin kurulması amaçlanır. Azaltılmış yoğunluk hazırlık (RIC) rejimleri, miyeloablatif veya non-miyeloablatif tanımına uymayan bir ara rejim kategorisidir. Bu tür rejimler, önemli morbidite ve mortalite ile sonuçlanabilen ve hematopoietik kök hücre desteği gerektiren sitopenilere neden olur (12). AHKHN uygulanan tüm hastalar için optimal bir hazırlık rejimi yoktur; alıcının komorbiditeleri, hastalık durumu, donör ve greft kaynağı hazırlık rejimi seçimi sırasında dikkate alınmaktadır.

Hematopoietik kök hücrelerinin intravenöz olarak infüze edilmesinin ardından hastanın etkili bir immün sisteminin olmadığı 2-4 haftalık süreçte ciddi enfeksiyonlara yatkınlık yüksektir. Destekleyici bakım ve ampirik antibiyotik tedavisi, bu aşamadan başarılı geçişin temel etmenleridir. Birkaç hafta süren engraftman aşamasında, hematopoezin yeniden başlar ve iyileşme süreci hızlanır.

Engraftman sonrası immün yeniden yapılanma ile birlikte kademeli olarak tolerans gelişimi olur. Bu dönem immünosupresyonun kesilmesi ve graft versus host hastalığının (GVHH) yönetimini içerir.

4.1.4. Akut Lösemilerin Tedavisinde Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli

AHKHN orta veya yüksek riskli 60 yaşından genç çoğu AML hastası için öne çıkan bir tedavi seçeneğidir. Orta ve yüksek riskli olan hastalarda birinci tam remisyonda, düşük riskli olan hastalarda ikinci tam remisyonda ve sonrasında önerilmektedir. Ayrıca primer refrakter veya nüksetmiş AML'li hastalar için tek küratif seçenektir. Özellikle 50 yaşın altındaki hastalarda MAC rejimleri, RIC veya NMA rejimlerine tercih edilir. Son yıllarda nakil sürecinde destek tedavinin ve enfeksiyon kontrolünün iyileşmesiyle daha iyi sonuçlar elde edilse de nakil ilişkili

komplikasyonlar ve mortalite yaş ile artmaktadır. Bu nedenle ileri yaştaki fit hastalar için RIC veya NMA rejimler ile hazırlık önerilmektedir (9, 10, 13).

AHKHN yüksek riskli özellikler gösteren ALL hastalarında birinci remisyon sonrası tedavisinin bir parçası olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Düşük riskli hastalarda ikinci tam remisyon ve sonrasında, nüks refrakter hastalık varlığında AHKHN tek küratif seçenek olabilmektedir (14).

4.1.5. Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli Sonrası Komplikasyonlar

AHKHN sonrası ilaç toksisiteleri ve immüsupresyonun yoğunluğu nedeniyle mortalite ve morbidite ilk yılda en yüksektir, ancak bu zamanla azalır. Komplikasyonlar nakil sonrası geliştikleri zamana göre genel olarak ikiye ayrılır: ilk bir yıl içerisinde gelişen komplikasyonlar erken komplikasyonlar, sonrasında gelişen komplikasyonlar ise geç komplikasyonlar olarak adlandırılır.

Erken komplikasyonlar arasında sıklıkla karşılaşılanlar; sitopeniler ve bununla ilişkili olarak kanama ve yoğun bakım yatışı gerektirebilecek sepsis ile sonuçlanan enfeksiyonlar, ciddi oral mukozit ve diyare, asemptomatik laboratuvar değerlerden fulminan sonuçlara yol açabilecek geniş bir spektrumdaki renal, pulmoner ve karaciğer fonksiyon bozukluklarıdır (15-17).

Nakil sonrası hastaların takibinde sıklıkla karşılaşılan ağız-göz kuruluğu, avasküler nekroz gibi komplikasyonlar önemli bir morbidite kaynağı olsa da genel sağkalım üzerinde etkisi bulunmamaktadır. Bununla birlikte nakil sonrası geç dönemde kardiyovasküler olaylar, son dönem böbrek yetmezliği, bronşiyolit obliterans veya yıllar sonra ortaya çıkabilen sekonder maligniteler (solid, sekonder hematolojik veya nakil sonrası lenfoproliferatif hastalık) gibi komplikasyonlar nüks dışı mortalitenin önemli sebeplerindendir (18, 19).

4.1.6. Graft-versus-Host Hastalığı

AHKHN’de hastalık nüksü hariç tutulduğunda en önemli mortalite nedeni GVHH’tır (18, 19). Vericinin T hücreleri alıcı hücrelerini yabancı bir antijen olarak algılayarak bir immünolojik yanıt oluşturur ve alıcı dokularında yıkıma neden olur. AHKHN sonrası GVHH’nin mortalite ve morbidite oranı %30-70 arasında seyretmekte ve bu oran son yıllarda gittikçe yaygınlaşan alternatif vericilerin (örn: haploidentik verici) kullanıldığı nakil süreçleri sonucunda artma eğilimi göstermektedir. Glukokortikoidler %40-60’lık yanıt oranlarına

rağmen, akut GVHH'nin tek standart başlangıç tedavisi olmaya devam etmektedir. Akut GVHH için ikinci basamak tedavisi için ise standart bir tedavi seçeneği, endikasyon veya zamanlama bulunmamaktadır (18, 20).

Geleneksel olarak GVHH, 100 günlük bir sınır ile başlangıç zamanına dayalı olarak akut ve kronik olarak ikiye ayrılmıştır. Ancak akut GVHH (aGVHH) ve kronik GVHH (kGVHH) belirtilerinin bu belirlenmiş dönemlerin dışında ortaya çıkabileceği göz önüne alındığında bu tanımlamalar yerini zaman ayırımına değil klinik bulguların değerlendirilmesine bırakmıştır. aGVHH'nin primer hedef organları cilt, gastrointestinal sistem ve karaciğerdir. Daha nadir olarak, hematolojik sistem, gözler, böbrekler ve akciğerlerin tutulumu tanımlanmıştır. aGVHH'nin sık görülen klinik bulguları arasında makülopapüler döküntü, ısrarcı mide bulantısı ve/veya kusma, abdominal krampların eşlik ettiği diyare ve serum bilirubin konsantrasyon artışı yer almaktadır (21). kGVHH ise otoimmün ve diğer immünolojik hastalıklara (örn., skleroderma, Sjögren sendromu, primer biliyer siroz, bronşiyolit obliterans) benzeyen değişken özellikler ile ortaya çıkabilir. Belirtiler tek bir organa sınırlı olabileceği gibi çoklu sistem tutulumu ile de kendini gösterebilir. kGVHH'nin yaygın klinik bulguları cilt tutulumu (liklen planus veya kutanöz skleroderma benzeri), ağız kuruluğu, gastrointestinal sistemde ülserasyonlar ve skleroz, serum bilirubin yüksekliği ve bronşiolitis obliteranstır (18, 22).

4.1.7. Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli Sonrası Hastalık Nüksü

Akut lösemi hastalarında verilen AHKHN yapıldıktan sonra ilerleyen dönemde hastalık nüksü gelişmesi tedavi başarısını kısıtlayan, nakil sonrası mortalitenin en önemli nedenidir. Nüks riski primer hastalığın tanısı, risk sınıflaması, nakil öncesi hastalık durumu ve hazırlık rejiminin yoğunluğu dahil olmak üzere çeşitli faktörlere göre değişir. AHKHN sonrası ilk 12 ay içinde nüks riski en yüksektir ve erken nüks daha kötü sonuçlarla ilişkilidir (23).

AML hastaların yaklaşık %40'ı nakil sonrası hastalığın nüks ile karşılaşır ve bu hastalarda 2 yıllık sağkalım %20'nin altına düşer (24). Nakil sonrası nüks için standardize bir yaklaşım olmamakla birlikte tedavi seçenekleri immüsupresif tedavinin kesilmesi, kemoterapi (hipometile edici ajanlar) veya hedefe yönelik tedavi ajanları, donör lenfosit infüzyonu (DLI), ikinci AHKHN, klinik çalışmalar veya destek tedavisidir (24, 25). AML hastalarının nakil sonrası nüks riski hastalığa ve nakil sürecine ilişkin faktörler ile artabilir. Hastalığın kendisi ile ilişkili faktörler; orta-yüksek sitogenetik riske sahip olmak, yüksek riskli mutasyonları taşımak,

nakil sırasında birinci tam remisyon dışındaki hastalık aktivitesi ve nakil sırasında ÖKH pozitifliğidir (25-28). Nakil ile ilişkili faktörler ise RIC rejimler ile hazırlık yapılması ve kGVHH geçirmemiş olmamaktır (25, 27, 29, 30). Benzer şekilde, birinci tam remisyon sonrası AHKHN yapılan ALL hastalarının da %20-40'ında hastalık nüksü gelişir ve nüks sonrası median sağkalım 5.5 ay olarak saptanmıştır (31). Nakil sonrası nüks için tedavi seçenekleri kemoterapi, t(9;22) pozitif hastalar için tirozin kinaz inhibitörleri, DLI veya ikinci AHKHN'dir. Bunlara ek olarak monoklonal antikolar ve kimerik antijen reseptörü (CAR)-T hücreleri geliştirilmektedir ve önümüzdeki birkaç yıl içinde ALL tedavisi seçeneklerini değiştirmesi beklenmektedir (32).

4.2. Ölçülebilir Kalıntı Hastalık

Kemik iliği veya periferik kanda standart morfolojik yöntemler ile saptanamayan ve ilerleyen dönemde hastalık nüksüne neden olan kalıntı lösemi hücrelerinin varlığı minimal kalıntı hastalık (MKH) olarak adlandırılır (33, 34). Bununla birlikte, kalıntı lösemi hücrelerinin tespit etme yeteneği kullanılan metodolojiye bağlı olduğundan yeni gelişen teknolojiler sayesinde yüksek duyarlılık ile lösemik hücrelerin saptanabilmesi son zamanlarda "ölçülebilir" kalıntı hastalık kavramını gündeme getirmiştir (35).

Akut lösemi izlemi sırasında saptanan ÖKH, yapıldığı zamanlamaya göre (tedavinin erken dönemi, indüksiyon/konsolidasyon sonrası, AHKHN öncesi ve sonrası) farklı bilgiler sağlayabilir. Klinikte en sık morfolojik olarak saptanan tam remisyon (TR) durumunun güçlendirilmesi için kullanılır (36). Buna ek olarak hastalığın farklı dönemlerinde ÖKH varlığının gösterilmesi prognostik öneme sahiptir. Çalışmalar herhangi bir yöntemle gösterilen ÖKH varlığının daha yüksek nüks oranları, daha kısa nüksüz sağkalım ve genel sağkalım gibi olumsuz klinik sonuçlar ile ilişkili olduğunu göstermektedir (7, 37, 38) İndüksiyon/konsolidasyon sonrası ÖKH saptanması AHKHN için en önemli karar verme parametrelerinden biridir (39). Buna ek olarak AHKHN öncesi ÖKH pozitifliği daha kötü nakil sonuçları ile ilişkili bulunmuştur. Nakil öncesi ÖKH değerlendirilmesinin tedavi yoğunlaştırılmasına fırsat vererek nakil sonrası sonuçlarının iyileştirilmesi için yararlığı olduğu belirtilmiştir; nakil sonrası ÖKH izlemi ile ilgili veriler ise daha sınırlıdır (40).

4.2.1. Ölçülebilir Kalıntı Hastalık Analizinde Hücre Kaynağı

ÖKH izleminde optimal materyal seçimi değerlendirme için önemli basamaklardan biridir. Periferik kan hücrelerinin kemik iliği yerine kullanılabileceği geçmişte tartışılmış olsa da günümüzde hastalığa bağlı olarak örnek seçimi değişkenlik göstermektedir (40). Pre-B hücreli ALL’de ÖKH düzeyinin periferik kanda kemik iliğine göre 1-3 log daha düşük olabileceği saptanmıştır. Bu nedenle periferik kan örneklerinin kemik iliğinin yerine geçmesi önerilmez. AML ve T-ALL’de ise periferik kan ve kemik iliği örneklerinde ÖKH düzeylerinin büyük oranda benzer olduğu ve periferik kanın alternatif bir kaynak olabileceği gösterilmiştir. Ancak rutin pratikte her iki hastalıkta da kemik iliği örnekleri yaygın olarak kullanılmaktadır (41-44).

4.2.2. Ölçülebilir Kalıntı Hastalık Analizinde Kullanılan Yöntemler

ÖKH günümüzde sıklıkla MFC ve/veya RT-qPCR dayalı moleküler yöntemler ile değerlendirilir. Yeni nesil dizileme yöntemleri (NGS), son yıllarda ÖKH izleminde öne çıkmakla birlikte henüz standardize edilemediğinden klinik kullanımı kısıtlıdır.

MFC, ÖKH değerlendirilmesinde en sık kullanılan yöntemdir (45). Lökositlerin çekirdek, sitoplazma ve hücre yüzeyinde bulunan ve lökosit alt tiplerine göre farklı düzeyde eksprese edilen antijenlerin miktarı florokrom işaretli spesifik monoklonal antikorlar yardımıyla ölçülmesine dayalıdır (40). MFC değerlendirilmesinde genel olarak iki yaklaşım vardır. Bunlardan ilki tanı sırasında saptanan lösemik blastların takip sırasında da tüm lökositler içindeki yüzdesinin saptandığı lösemi ilişkili immünofenotipler (LAIP) yaklaşımıdır. İkincisi ise herhangi bir zaman noktasında anormal farklılaşma/olgunlaşma profillerinin tanımlanmasına dayanan normalden farklı (DfN) yaklaşımıdır (34, 46). LAIP yaklaşımı, yalnızca tanı sırasında tespit edilen baskın immünofenotipleri ölçtüğünden klonal evrim nedeniyle ortaya çıkan yeni immünofenotipleri gözden kaçırabilir ve yanlış negatiflik riski taşır. DfN yaklaşımı, tanı sırasında immünofenotip yokluğunda bile uygulanabilmesi ve yeni klonların ortaya çıkmasından kaynaklanan immünofenotip değişikliklerini tespit edebilmesi avantajına sahiptir. Ancak tedavi sonrası rejenere olan kemik iliğinde meydana gelen geçici klonal değişimler varlığında yanlış pozitif sonuç verebilir (47-49). Bu nedenle MFC yorumlanırken her iki yaklaşımın entegre edildiği LAIP-tabanlı-DfN değerlendirilmesi önerilmektedir (28, 50). MFC ile ÖKH değerlendirilmesinin sensitivitesi ALL için 10^{-3} – 10^{-4} ’e AML için ise 10^{-4} – 10^{-5} ’e ulaşır ve hastaların %90’ından fazlasına uygulanabilir (34, 40).

Klinik izlemde karar verirken AML için % 0.1 ve üzeri ALL için ise % 0.01 MFC-ÖKH değerleri pozitif olarak değerlendirilir (2, 28). Bununla birlikte daha yeni tekniklerle çok düşük MRD seviyelerinin ($<10^{-5}$) saptanabilir hale gelebileceği gösterilmiştir. Belirtilen cut-off değerlerinin altında olsa bile lösemik blast varlığının tespit edilmesi önemli bir "gri alan" uyarısını temsil edebilir (51). MFC sonuçlarının yorumlanabilmesi üst düzey uzmanlık gerektirmektedir; uygun antikor panelinin seçimi, verilerin doğru analizi, kemik iliğinin normal ve rejeneratif dönemde ekspresyon kalıplarının kapsamlı bilgi birikimi doğru MFC değerlendirilmesi için kritik öneme sahiptir.

Akut lösemi hastalarında moleküler ÖKH izlenmesinde kullanılan yöntemler çoğunlukla RT-qPCR tabanlı yöntemlerdir. Bunlardan biri hem AML hem ALL hastalarında kullanılan kromozomal translokasyonlar sonrası oluşan füzyon genlerinin saptandığı füzyon transkript analizidir. Bu test için seçilen genler, tedavi sırasında kazanılıp kaybedilebilen kararsız genler değil hastalık ilerlemesi sırasında takip edilebilen stabil genler olmalıdır (52). AML'de *PML-RARA*, *RUNX1-RUNXT1*, *CBFB-MYH11*, *KMT2A-MLLT3*, *DEK-NUP214* ve *BCR-ABL* gibi füzyon genleri moleküler ÖKH hedefleridir. ALL hastalarında ise sık görülen *BCR-ABL1*, *KMT2A-AFF1* ve *SIL/TAL1* füzyon genleri RT-qPCR ile değerlendirilir (2, 3, 28, 40, 50, 52). Bu yöntemler akut lösemi hastalarının yaklaşık %40'ına uygulanabilir ve ÖKH izleminde sensitivitesi 10^{-4} – 10^{-5} olarak gösterilmiştir (3, 40, 41, 52). Füzyon geni negatif AML hastalarında ise nükleofosmin 1 (*NPM1*), FMS-like tirozin kinaz 3 (*FLT3*) ve CCAAT enhancer bağlayıcı protein alfa (*CEBPA*) gibi moleküler mutasyonlar RT-qPCR tabanlı ÖKH izlenmesi için potansiyel oluşturmaktadır (52). *FLT3* sık tekrarlayan mutasyonlar barındırsa da internal tandem duplikasyon (*FLT3/ITD*) oldukça kararsızdır; tedavi sırasında kazanılabilir veya kaybedilebilir. *FLT3/ITD*'nin varlığının kalıntı hastalığın güçlü bir göstergesidir, ancak bu mutasyonun negatifliğinin kalıntı lösemi hücrelerinin olmadığı anlamına gelmediğinden sensitivitesi yüksek teknikler ile değerlendirilmesi önerilmektedir (53). European LeukemiNET MRD Working Group tarafından lösemiye özgü PCR hedeflerinin (ör: *NPM1*, *PML-RARA* veya *CBF*), *WT1* veya *EV11* gibi daha spesifitesi düşük belirteçlere göre tercih edilmesi önerilmektedir (28). ALL hastalarında füzyon gen analizine ek olarak, lösemik blastlara özgü olan immünoglobulin ve T hücre reseptör (Ig/TCR) gen yeniden düzenlemeleri PCR ile değerlendirilerek ÖKH izleminde kullanılabilir (2). Bu yöntem ALL hastalarının %90'ına uygulanabilir ve sensitivitesi 10^{-4} – 10^{-5} 'e ulaşır. Ancak tanıda büyük miktarda DNA gerektirmesi, görece zaman alıcı ve pahalı olması bu yöntemin kullanımını sınırlandırmaktadır (2, 6, 40).

PCR tabanlı yöntemler ile yalnızca belirli moleküler belirteçlerin çalışılabilmesi engeli teorik olarak NGS ile aşılabılır. Lösemiye özgü genetik belirteçlerin tümüne uygulanabilen bu yaklaşım, izlenen hastaların yüzdesini %40 daha artırabilir.(46, 54, 55) Ancak NGS hala doğrulama ve standardizasyon gerektiren bir yöntemdir ve henüz rutin kullanıma girmemiştir (50).

Tablo 4.1: ÖKH yöntemlerinin karşılaştırılması

Yöntem	Duyarlılık		Uygulanabilirlik
MFC	AML: $10^{-4} - 10^{-5}$	ALL: $10^{-3} - 10^{-4}$	>%90
RT - qPCR	$10^{-3} - 10^{-6}$		%40
NGS	$10^{-3} - 10^{-4}$		%90

4.3.Kimerizm

Kimerizm genetik açıdan farklı olan iki hücre serisinin aynı canlıda bulunması durumudur. Günümüz tıp pratiğinde kan transfüzyonu, solid organ veya kök hücre nakil uygulamalarıyla edinsel bir kimerizm ortaya çıkabilir. AHKHN sonrası kimerizm analizi periferik kan veya kemik iliği örneklerindeki donör ve/veya alıcı hücre varlığını tespit etmeyi sağlayan bir tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır. Hastaların nakil sonrası izleminde hem donör hücrelerinin engraftman düzeyi hem de altta yatan hastalığın nüks riski hakkında önemli bilgiler verir (56).

4.3.1. Kimerizm Tipleri

Donör ve/veya alıcıdan köken alan hücrelerin dengesine göre kimerizm iki farklı şekilde adlandırılır. Alıcının hematopoietik dokularında donör kaynaklı hücrelerin %95 ve üzerinde bulunması tam kimerizm (TK); %95'in altında bulunması ise karma kimerizm (KK) olarak tanımlanır. AHKHN sonrası gelişen kimerizm dinamik bir durumdur; hastaları izlemi sırasında artan veya azalan donör kimerizmi saptanabilir. Tam kimerizme sahip bir olgu karma kimerizme dönüşebilir veya bunun tam tersi olabilir. Kimerizm ile ilgili göz önünde bulundurulması gereken bir diğer önemli durum ise farklı hücre alt tiplerinde kimerizm düzeylerinin farklı seviyelerde olabileceğidir; bu durum ayrıışmış kimerizm olarak adlandırılır (57, 58).

AHKHN sonrası erken dönemde donör kimerizminin azalması veya KK'in sebat etmesi altta yatan hematolojik maligniteden bağımsız olarak nüks ve azalmış sağ kalım ile ilişkili bulunmuştur (59-62). Bu tür vakaların erken dönemde saptanması ve yakın izlemi alınacak önlemler ve uygulanacak tedaviler açısından son derece önemlidir.

4.3.2. Kimerizm Analizinde Hücre Kaynağı

Periferik kanda spesifik lökositlerde çalışılan kimerizm analizinin yalnızca total hücre analizi ile karşılaştırıldığında duyarlılık ve özgüllüğünün daha yüksek olduğu gösterilmiştir (63, 64). CD34 belirteci akut lösemi hastalarındaki blastların çoğunda eksprese edilir ve bu olgularda, özellikle hastalığa özgü bir ÖKH belirtecinin yokluğunda, total hücre analizine kıyasla hastalık nüksünün daha sensitif bir göstergesi olarak kullanılabilir (63, 65, 66). CD3+ hücre analizleri değerlendirildiğinde, karma- T hücre kimerizminin varlığı, artmış nüks riski ve düşük progresyonsuz sağkalım ile ilişkilendirilmiştir. Total hücre analizine ek olarak T-hücre kimerizminin kullanılması, periferik kan kimerizmi ile CD3+ kimerizmi arasında yaklaşık %10'unda önemli farklılıklar gözlemlendiğinden, KK'i daha yüksek bir duyarlılıkla ile saptayabileceği gösterilmiştir (67-69). CD19+ B hücreleri ve doğal öldürücü hücreler gibi diğer hücre tipleri de klinik deneylerde kullanılmış olmasına rağmen kullanımlarını standart hale getirmek için yeterli kanıt bulunmamaktadır.

Periferik kanda kimerizm analizine ek olarak kemik iliği analizi de yapılabilmektedir. Kemik iliği kimerizminin nüks veya greft yetmezliği ile ilgili rolünü araştıran izlem çalışmalarının yeterli olmaması nedeniyle standart takipte kemik iliği kimerizminin rolü net olmamakla birlikte periferik kan analizi ile birlikte kullanılmasının KK saptama hassasiyetini artırabileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte, kemik iliği analizlerinde AHKHN sonrası nüks etmeyen ancak KK olarak tanımlanan hasta sayısı daha yüksek olabilir. Bu durum, kemik iliği örneklerinin otolog stromal hücreler tarafından kontaminasyonundan kaynaklanabilir ve kemik iliği kimerizminin sonuçları yorumlanırken dikkate alınmalıdır (58, 70-72).

4.3.3. Kimerizm Analizinde Kullanılan Yöntemler

Kimerizm analizi, alıcı ve vericinin kan veya kemik iliğindeki genetik profillerinin tanımlanmasına dayanmaktadır. Genotiplendirme için transplantasyon öncesinde hem alıcı hem de vericinin DNA örneklerinin mevcut olması gerekir. Kısa ardışık tekrar dizileri (STR), tek nükleotid polimorfizmi (SNP), insersiyon veya delesyonlar(INDEL) gibi polimorfik genetik

belirteçlerdeki farklılıkların analizi ile alıcı ve vericinin genetik profilleri oluşturulur (4, 57, 64, 73).

STR ortalama belirli bir DNA parçası içinde ard arda tekrarlayan 2-6 bazlık DNA dizileridir. Bu dizilerinin tekrarlama sayısı bireyler arasında oldukça değişkenlik göstermekte ve DNA'yı polimorfik yapan özelliklerden birini oluşturmaktadır. STR'lerin PCR ile amplifikasyonu ile alıcı ve donör DNA'sı tanımlanabilir. STR'e dayalı kimerizm analizinin duyarlılığı %1-5 olarak bildirilmiştir. Tekrarlanabilirliği ve uygulanabilirliği ise %100'e yakındır (1, 74, 75). 2000'li yıllardan itibaren tek nükleotid SNP ve INDEL RT-qPCR ile amplifiye edilerek saptanabilmektedir. Bu yöntem ile sensitivite %0,01 – 0.1, uygulanabilirliği ise >%90 olarak bildirilmiştir (1, 58, 76). Damlacık dijital PCR ile kimerizm analizi henüz geliştirilme aşamasında olup, klinik çalışmalar dışında kullanımlarına ilişkin bir standardizasyon bulunmamaktadır. Alıcı ve donörün cinsiyetlerinin farklı olması durumunda kimerizm X/Y floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemi ile değerlendirilebilmektedir. Birçok laboratuvar da çalışılabilen bu yöntem ile sensitivite %0.001-0.1 olarak bildirilmiştir. Ancak AHKHN'lerin %50'sinin cinsiyet uyumsuz nakiller olması uygulanabilirliğini sınırlamaktadır (1, 58). STR'lerin PCR ile amplifikasyonu hem standardizasyon, uygulanabilirlik ve tekrar edilebilirliğinin yüksek düzeyde olması hem de maliyet etkin olması nedeniyle kimerizm takibinde altın standart yöntem olarak öne çıkmaktadır.

Tablo 4.1: Kimerizm yöntemlerinin karşılaştırılması

Yöntem	Duyarlılık	Uygulanabilirlik
PCR ile STR	%1-5	%100
RT- qPCR ile SNP, INDEL	%0,01-0,1	>%90
X/Y FISH	%0,001-0,1	%50

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Araştırma Tasarımı ve Hastalar

Bu araştırmaya Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'nda takibi yapılan katılımcılar alınmıştır. Araştırmamız Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 01.06.2021 tarih ve İ5-340-21 numaralı kararı ile etik olarak uygun görülmüştür.

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı Kemik İliği Nakil Ünitesi'nde akut lösemi nedeniyle 01.01.2010 – 31.12.2021 tarihleri arasında allojeneik kök hücre nakli yapılan hastalar retrospektif olarak araştırmaya alınmıştır. Araştırmamıza, akut miyeloid lösemi veya akut lenfoblastik lösemi tanısı almış, AHKHN ilk kez yapılmış, 28. gün kemik iliği değerlendirilmesi morfolojik tam yanıt olan, 18 yaş ve üzeri hastalar dahil edilmiştir. Nakil sonrası 28. gün öncesinde exitus olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

Hastaların yaş, cinsiyet, kan grubu, primer hastalığın histopatolojik tanısı, hastalığa özgü sitogenetik parametreleri, AHKHN tarihi, AHKHN sürecinde kullanılan hazırlık rejimi, AHKHN sırasında primer hastalığın durumu, AHKHN sonrası 28. gün, 2., 3., 6. ve 12. aylardaki ayrışmamış ve T hücre kimerizm yüzdeleri, AHKHN sonrası 28. gün, 3. ve 12. aylardaki akım sitometrik ve moleküler ÖKH sonuçları, AHKHN sonrası akut veya kronik GVHH geçirilmesi durumunda steroid kullanımı, takipte nüks görülüp görülmemesi, nüks tarihi, nüks sırasında kimerizm ve ÖKH sonuçları, nüks sırasında kemik iliği ve/veya ekstremiteler dokunun histopatoloji sonucu, son ziyaret tarihi ve ölüm tarihi geriye dönük olarak Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri veritabanından (AVİCENNA) ve hasta dosyalarından taranmıştır. Bu parametreler ile AHKHN sonrası nüksü ön görmede kimerizm ve ÖKH sonuçlarının etkinlikleri araştırılmıştır.

5.2. Tanımlar ve Sınıflandırmalar

Tam remisyon (TR) kemik iliğinde %5'ten daha az blast varlığı, periferik kan ve ekstremiteler dokularında blast izlenmemesi ve tam kan sayımının düzelmesi; hastalık nüksü ise morfolojik olarak tam remisyon kaybı olarak tanımlanmıştır. İkinci ve üçüncü tam remisyon, sırasıyla birinci veya ikinci nüks için kurtarma kemoterapisi aldıktan sonra remisyon olarak belirtilmiştir. Aktif hastalık primer indüksiyon yetmezliği olan ve kurtarma kemoterapisinden sonra remisyona ulaşamayan hastalar olarak tanımlanmıştır.

Akut lösemiler için risk sınıflandırması 2017 European LeukemiaNet ve 2021 National Comprehensive Cancer Network kılavuzlarına uygun olarak yapılmıştır (77-79).

5.3. Kimerizm, Akım Sitometri ve Moleküler Ölçülebilir Kalıntı Hastalık Analizi

Kimerizm düzeyi STR'lerin PCR tabanlı mikrosatelit analizi (Qiagen Plex Plus Kit (100) PCR Assay, genemapper v3.2) ile araştırılmıştır. AHKHN sonrası rutin takip tetkikleri içerisinde bulunan 28. gün, 3. ay, ve 12. ay kemik iliği ayırışmamış ve T hücre kimerizmleri ile 2. ay ve 6. ay periferik kan ayırışmamış ve T hücre kimerizmler değerlendirmeye alınmıştır. Verici hücrelerinin <%95 altında olması karma kimerizm olarak belirtilmiştir.

MFC ile ÖKH ölçümü zaman aralığı ile ilişkili olarak 8-10 renkli ölçüm yapabilen 3 lazerli FC500 ya da Navios Cihazlarında yapılmıştır. Bu çalışmaya dahil edilen olgularda nakil öncesi alınan kemik iliği aspirasyon örneklerinde atipik miyeloid progenitörlerin tespit edilebilmesi için AML için CD45, CD34, CD117, CD38, HLA-DR, CD123, CD33, CD19, CD7, CD56 (son 2 parametre son 2 yılda dahil edildi) ALL için ise CD45, CD10, CD19, CD34, CD38, CD20, CD58 ifadeleri değerlendirilmiştir. En az 1.000.000 lökosit verisi toplanarak (2019 öncesine kadar 100.000) Kaluza yazılımı (Beckman Coulter, USA) kullanılarak değerlendirilmiştir. Akım sitometrik değerlendirmede ÖKH pozitifliği AML için atipik progenitör hücrelerin %0,1 ve üzerinde olması ALL için %0,01 ve üzerinde olması sınır değer kabul edilmiştir.

t(1;19), t(4;11), t(8;21), t(9;22), t(12;21), inv16 translokasyonları tanı sırasında tarama testi RT-qPCR analizi (HemaVision-7Q) ile kalitatif olarak araştırılmıştır. Bahsedilen translokasyonların tanı sırasında saptanması durumunda mutasyon düzeyleri kantitatif olarak RT-qPCR (Ipsogen RT Kit) ile değerlendirilmiştir. *NPM1* mutasyon analizi RT-qPCR (Ipsogen RT Kit) yöntemi ile hem tanı anı hem tedavi sonrası izlemde kantitatif olarak, *FLT-3* mutasyon analizi ise hem tanı anı hem tedavi sonrası izlemde kalitatif (LeukoStrat FLT3 Mutation Assay) olarak değerlendirilmiştir.

5.3. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 25 paket programında yapılmıştır. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) incelenmiştir. Tanımlayıcı analizler normal dağılan sayısal değişkenler için ortalama ve

standart sapma; normal dağılmayan sayısal değişkenler için ortanca ve uç değerler; ordinal ve kategorik değişkenler için ise frekans tabloları ile verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalarda normal dağılmayan sayısal değişkenler için Mann Whitney U testi, kategorik değişkenler için ise yerine göre Ki-kare ya da Fisher Testi kullanılmıştır. AML ve ALL tanılı hastalarda nüks gelişimi için bağımsız risk faktörlerini belirlemek amacıyla tek değişkenli analizde $p < 0,25$ olan değişkenler belirlenmiştir. Bu değişkenlerden log rank p değeri $> 0,25$ olanlar ve log minus log eğrisi paralel olmayanlar analizden çıkarılmıştır. Korelasyon analizinde iki değişkenin arasındaki korelasyon katsayısı 0,6'nın üzerinde olduğunda log rank p değeri daha büyük olan veya klinik anlamlılığı daha düşük olan analizden çıkarılmıştır. Kalan değişkenler cox regresyon analizine dahil edildi ve bağımsız risk faktörleri için hazard oranları hesaplanmıştır. Hesaplamalar sonucu oluşan rezidüeller değerlendirilerek dönemsel riskin oransallığı ve modelin doğruluğu test edilmiştir. Genel ve olaysız sağkalım hızları Kaplan-Meier sağkalım analizi kullanılarak hesaplanmıştır. Değişkenlerin sağ kalım üzerine etkisi log rank testi kullanılarak incelendi. $P < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

6. BULGULAR

6.1. Hastaların Tanımlayıcı Özellikleri

Çalışmamız 3 Mart 2010 – 5 Kasım 2021 tarihleri arasında akut lösemi nedeniyle allojeneik kök hücre nakli yapılan ve dahil edilme kriterlerine uyan 264 hasta ile tamamlandı. Hastaların AHKHN sırasında ortalama yaşı $40,4 \pm 13,8$ idi. Hastaların ortanca takip süresi 18,8 (1,1-137,9) ay idi. Hastaların 119'u (%45) kadın, 145'i (%55) erkekti. Hastaların 186'sı (%70,5) AML, 78'i (%29,5) ise ALL tanısı ile takip edilmekteydi. ALL hastalarının 52'si (%66) B-ALL, 26'sı (%34) T-ALL tanılıydı. Hastaların 123'ünde (%46,6) vericisiyle cinsiyet uyumsuzluğu, 142'sinde (%53,8) ise vericisiyle kan grubu uyumsuzluğu vardı. 112 (%42,4) hasta 10/10 uyumlu akraba vericiden, 61 (%23,1) hasta 10/10 uyumlu akraba dışı vericiden, 2 (%0,7) hasta 9/10 uyumlu akraba vericiden, 65 (%24,6) hasta 9/10 akraba dışı vericiden, 24 (%9) hasta ise haploidentik nakil yapılmıştı. AHKHN öncesi hazırlık rejimi 219 (%83) hasta için miyeloablatif 45 (%17) hasta için ise yoğunluğu azaltılmış rejimdi. AML hastalarının 79'u (%42,5), ALL hastalarının ise 44'üne (%56,4) için GVHH profilaksisi olarak anti-timosit globülin (ATG) verilmişti. Nakilde verilen ortalama CD34 hücre dozu $5,83 \pm 1,53 \times 10^6/\text{kg}$ 'dı. AML hastalarında ortanca nötrofil engraftman günü 16 (10-53), ALL hastalarında ise 17 (10-29)'di. ALL hastalarında ortanca trombosit engraftman günü 14 (5-57), ALL hastalarında ise 15,5 (7-54)'ti.

Hastaların 124'ü % (46,9) 1.TR, 79'u (%26,9) 2. ve 3.TR, 61'i (%23,2) ise aktif hastalık ile AHKHN yapılmıştı. AML hastalarının 84'ü (%45,2) 1.TR, 58'i (%31,2) 2.TR ve 44'ü (%23,7) ise aktif hastalık ile nakil yapıldı. ALL hastalarının ise 40'ı (%51,3) 1.TR, 21'i (%26,9) 2.TR ve 17'si (%21,8) aktif hastalık ile nakil yapıldı. AML hastalarının 58'i (%31,2), ALL hastalarının 22'si (%28,2) nakil sırasında tam remisyonda olduğu halde ÖKH pozitif. 262 hastanın risk sınıflandırmaları yapıldı; 186 AML hastasının 24'ü (%12,9) düşük risk, 92'si standart risk (%49,5), 70'i (%37,6) ise yüksek riskli idi. 76 ALL hastasının 15'si (%19,7) standart riskli, 61'i (%80,3) yüksek riskli idi. Takip süresince 113 (%42,8) hastada akut GVHH, 63 (%17) hastada ise kronik GVHH saptandı. AML ve ALL hastalarının tanımlayıcı özelliklerini içeren veriler ve **Tablo6.1**'de özetlenmiştir.

Tablo 6.1: Çalışmaya dahil edilen hastaların tanımlayıcı özellikleri

	Toplam (n=264)	AML (n=186)	ALL (n=78)
AHKHN sırasında yaş	40,4±13,8	43,6±13,6	32,7±11,2
Cinsiyet			
Kadın (%)	119 (45)	91 (48,9)	28 (35,9)
Erkek (%)	145 (55)	95 (51,5)	50 (64,1)
Takip süresi	18,8 (1,1-137,9)	18,7 (1,1-137,9)	21,9 (1,4-135,2)
Cinsiyet uyumsuzluğu (%)	123 (46,6)	91 (48,9)	32 (41)
Kan grubu uyumsuzluğu (%)	142 (53,8)	100 (53,8)	42 (53,8)
HLA Uyumu (%)			
10/10 Uyumlu akraba verici	112 (42,4)	83 (44,6)	29 (37,2)
10/10 Uyumlu akraba dışı verici	61 (23,1)	40 (21,5)	21 (26,9)
9/10 Uyumlu akraba verici	2 (0,7)	2 (1,1)	-
9/10 Uyumlu akraba dışı verici	65 (24,6)	43 (23,1)	22 (28,2)
Haploidentik nakil	24 (9)	18 (9,7)	6 (7,7)
Nakil sırasında hastalık durumu (%)			
1. Tam Remisyon	124 (46,9)	84 (45,2)	40 (51,3)
≥2. Tam Remisyon	79 (29,9)	58 (31,2)	21 (26,9)
Aktif hastalık	61 (23,2)	44 (23,7)	17 (21,8)
Nakil sırasında ÖKH pozitif olanlar (%)	80 (30,2)	58 (31,2)	22 (28,2)
Risk sınıflandırması (%)		Düşük risk 24 (12,9)	(n=76)
		Standart risk 92 (49,5)	Standart risk 15 (19,7)
		Yüksek risk 70 (37,6)	Yüksek risk 61 (80,3)
Kök hücre kaynağı (%)			
Periferik kan	248 (93,9)	173 (93)	75 (96,2)
Kemik iliği	14 (5,3)	11 (5,9)	3 (3,8)
Periferik kan + Kemik iliği	2 (0,8)	2 (1,1)	-
Hazırlık rejimi (%)			
Miyeloablative	219 (83)	147 (79)	72 (92,3)
Yoğunluğu azaltılmış	45 (17)	39 (21)	6 (7,7)
ATG kullanımı (%)	123 (46,6)	79 (42,5)	44 (56,4)
CD34 dozu (x10⁶/kg)	5,83±1,53	5,78±1,46	5,94±1,69
Nötrofil engraftman günü	17 (10-53)	16 (10-53)	17 (10-29)
n=255 (AML=182, ALL=73)			
Trombosit engraftman günü	14 (5-57)	14 (5-57)	15,5 (7-54)
n=244 (AML=173, ALL=71)			
Kategorik veriler sayı (yüzde) ile ifade edilmiştir.			
Sayısal değerlerden normal dağılım gösterenler ortalama ± standart sapma ile, normal dağılım göstermeyenler ortanca (en düşük değer – en yüksek değer) olarak ifade edilmiştir.			
Kısaltmalar: AHKHN:Allojeneik hematopoietik kök hücre nakli, HLA:Human lökosit antijen, ÖKH:Ölçülebilir Kalıntı Hastalık, ATG:Anti-timosit globulin			

6.2. AHKHN Sonrası Hastalık Nüksü

Çalışmaya alınan hastaların 95'inde (%35) takipte nüks gelişti. Nüks gelişen hastaların 68'i (%71,6) AML, 27'si (%28,4) ise ALL tanılıydı. AHKHN'den nükse kadar geçen sürenin

ortanca değeri 5 ay (1,7 – 67,8), AHKHN sonrası nüks gelişen hastaların takip süresi 13,8 (2,2-137,9) ay olarak saptandı.

AML hastalarında nüks oranı %36,5 olarak bulundu. Nüks olan hastaların 50'sinde (%73,5) ilk yıl içinde, 13'ünde (%19,1) ikinci yıl içinde, 4'ünde (%5,8) üçüncü yıl içinde 1'inde (%1,6) ise altıncı yılda nüks gelişti. AHKHN sonrası nüks gelişen ve gelişmeyen AML hastaları karşılaştırıldığında erkek hastaların oranının (%63,2) nüks gelişen grupta nüks gelişmeyenlere (%44,1) göre daha yüksek olduğu bulundu (**p=0,012**). AHKHN sırasında yaş (p=0,32), alıcı ile verici arasında cinsiyet uyumsuzluğu (p=0,32) ve alıcı ile verici arasında kan grubu uyumsuzluğu (p=0,29), HLA uyumu (p=0,59), kök hücre kaynağının (p=0,49), hazırlık rejiminin (p=0,64) ve ATG ile GVHH profilaksisinin (p=0,12) her iki grupta farklılık göstermediği saptandı. Nüks gelişen gruptaki hastaların AHKHN öncesi hastalık durumları değerlendirildiğinde 19'unun (%27,9) 1.TR, 25'inin (%36,8) 2. veya 3. TR, 24'ünün (%35,3) aktif hastalık ile nakle girdiği, nüks gelişmeyen gruptaki hastaların ise 65'inin (%55,1) 1.TR, 33'ünün (%28) 2. veya 3. TR, 20'sinin (%16,9) aktif hastalık ile nakle girdiği bulundu (**p<0,001**). Nüks gelişen hastaların 9'u (%13,2) düşük risk, 41'i (%60,3) standart risk, 18'i (%26,5) ise yüksek riske sahipken, nüks gelişmeyen hastaların 15'i (%12,7) düşük risk, 51'i (%43,2) standart risk 52'si (%44,1) ise yüksek riskteydi (**p=0,049**). Çalışma popülasyonundaki AML hastalarının 74'ünde aGVHH, 48'inde ise kGVHH gelişti. aGVHH gelişimi (p=0,99), aGVHH tedavisi için steroid kullanımı (p=0,48) ve kGVHH gelişiminin (p=0,11) AHKHN sonrası nüks olan ve olmayan hastalarda farklılık göstermediği saptandı. Steroid tedavisi gerektiren kGVHH gelişen hastaların sayısı nüks gelişmeyenlerde 34 (%97,1) nüks gelişenlerde 9 (%69,2) olarak bulundu, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (**p=0,015**). (Tablo 6.2)

ALL hastalarında nüks oranı %34,6 olarak bulundu. Nüks olan hastaların 22'si nde (%81,4) ilk yıl içinde, 4'ünde (%14,8), ikinci yıl içinde, 1'inde ise (%3,7) üçüncü yıl içinde nüks gelişti. AHKHN sonrası nüks gelişen ve gelişmeyen ALL hastaları karşılaştırıldığında AML'ye benzer şekilde erkek hastaların oranının nüks gelişen grupta (%77,2) nüks gelişmeyen grupla (%56,1) kıyaslandığında daha yüksek olduğu bulundu. Ancak aradaki fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı (p=0,062). AHKHN sırasında yaş (p=0,67), alıcı ile verici arasında cinsiyet uyumsuzluğu (p=0,97) ve alıcı ile verici arasında kan grubu uyumsuzluğu (p=0,83), HLA uyumu (p=0,67), kök hücre kaynağının (p=0,27), hazırlık rejiminin (p=0,41) ve ATG ile GVHH profilaksisinin (p=0,18) farklılık göstermediği saptandı. Nüks gelişen gruptaki hastaların AHKHN öncesi hastalık durumları değerlendirildiğinde 9'unun (%33,3) 1.TR,

10'unun (%37) 2. veya 3. TR, 8'inin (%29,6) aktif hastalık ile nakle girdiği, nüks gelişmeyen gruptaki hastaların ise 31'inin (%60,8) 1.TR, 11'inin (%21,6) 2. veya 3. TR, 9'unun (%17,6) aktif hastalık ile nakle girdiği bulundu. Nüks gelişen hastalarda nakil öncesi aktif hastalık oranı nüks gelişmeyen hastalardan daha yüksek olarak saptandı ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmadı ($p=0,07$). Nüks gelişen hastaların 5'i (%18,5) standart risk, 18'i (%22) ise yüksek riske sahipken, nüks gelişmeyen hastaların 10'u (%21,4) standart risk, 39'u (%79,6) ise yüksek riskteydi ($p=0,98$). Çalışma popülasyonundaki ALL hastalarının 11'inde aGVHH, 30'unda ise kGVHH gelişti. aGVHH gelişimi ($p=0,13$), kGVHH gelişimi ($p=0,79$) ve steroid tedavisi gerektiren kGVHH varlığının ($p=0,13$) AHKHN sonrası nüks olan ve olmayan hastalarda farklılık göstermediği saptandı. aGVHH için steroid alan hastaların oranı nüks gelişen hastalarda 9 (%81,8) nüks gelişmeyen hastalara 12 (%40) göre daha yüksek saptandı ($p=0,018$). (Tablo 6.2)

Tablo 6.2: AHKHN sonrası nüks gelişen ve nüks gelişmeyen AML ve ALL hastalarının karşılaştırmalı değerlendirilmesi

	AML (n=186)		p değeri	ALL (n=78)		p değeri
	Aşık nüks gelişen n=68	Nüks gelişmeyen n=118		Aşık nüks gelişen n=27	Nüks gelişmeyen n=51	
AHKHN sırasında yaş	41,9±13,3	44,5±13,8	0,32	33,1±10,9	32,5±11,4	0,67
Cinsiyet			0,012			0,062
Kadın (%)	25 (36,8)	66 (55,9)		6 (22,8)	22(43,1)	
Erkek (%)	48 (63,2)	52 (44,1)		21(77,2)	29(56,1)	
Takip süresi	14,1(2,7-134,3)	24,9 (1,1-137,9)	0,062	10,1 (2,2-73,7)	38,3 (1,4-135,2)	0,016
Cinsiyet uyumsuzluğu (%)	30 (44,1)	61 (51,7)	0,32	11 (40,7)	21 (41,2)	0,97
Kan grubu uyumsuzluğu (%)	40 (58,8)	60 (50,8)	0,29	15 (55,6)	27 (52,9)	0,83
HLA Uyumu (%)			0,59			0,67
10/10 Uyumlu akraba verici	32 (47,1)	51 (43,2)		10 (37)	19 (37,3)	
10/10 Uyumlu akraba verici	17 (25)	23 (19,5)		9 (33,3)	12 (23,5)	
9/10 Uyumlu akraba verici	1 (1,5)	1 (0,8)		-	-	
9/10 Uyumlu akraba verici	14 (20,6)	29 (24,6)		7 (25,9)	15 (29,4)	
Haploidentik	4 (5,9)	14 (11,9)		1 (3,7)	5 (9,8)	
Nakil öncesi hastalık durumu (%)			0,001			0,070
1. Tam Remisyon	19 (27,9)	65 (55,1)		9 (33,3)	31 (60,8)	
≥2. Tam Remisyon	25 (36,8)	33 (28)		10 (37)	11 (21,6)	
Aktif hastalık	24 (35,3)	20 (16,9)		8 (29,6)	9 (17,6)	
Nakil öncesi ÖKH pozitifliği (%)	23 (33,8)	35 (29,6)	0,79	7 (25,9)	13 (25,4)	0,99
Risk sınıflandırması (%) (n=262)						
AML (n=186)			0,049			
Düşük risk	9 (13,2)	15 (12,7)				
Standart risk	41 (60,3)	51 (43,2)				
Yüksek risk	18 (26,5)	52 (44,1)				
ALL (n=76)						0,98
Standart risk				5 (18,5)	10(21,4)	
Yüksek risk				22 (81,5)	39 (79,6)	
Kök hücre kaynağı (%)			0,49			0,27
Periferik kan	63 (92,6)	110 (93,2)		25 (92,6)	50 (98)	
Kemik iliği	5 (7,4)	6 (5,1)		2 (7,4)	1 (2)	
Periferik kan + Kemik iliği	0 (0)	2 (1,7)		-	-	
Hazırlık rejimi (%)			0,64			0,41
Miyeloablative	55 (80,9)	92 (78)		24 (88,9)	48 (94,1)	
Yoğunluğu azaltılmış	13 (19,1)	26 (22)		3 (11,1)	3 (5,9)	
ATG kullanımı (%)	34 (50)	45 (38,1)	0,12	18 (66,7)	26 (51)	0,18
aGVHH (%)	27 (39,7)	47 (39,8)	0,99	11 (40,7)	30 (58,8)	0,13
aGVHH steroid tedavisi (%)	15 (55,6)	30 (63,8)	0,48	9 (81,8)	12 (40)	0,018
kGVHH (%)	13 (19,1)	35 (29,7)	0,11	6 (22,2)	10 (19,6)	0,79
kGVHH steroid tedavisi (n=64)	9 (69,2)	34 (97,1)	0,015	4 (66,7)	10 (100)	0,13
Exitus (%) (n=139)	57 (83,8)	42 (35,6)	<0,001	22 (81,5)	18 (35,3)	<0,001

Kategorik veriler sayı (yüzde) ile ifade edilmiştir.

Sayısal değerlerden normal dağılım gösterenler ortalama ± standart sapma ile, normal dağılım göstermeyenler ortanca (en düşük değer – en yüksek değer) olarak ifade edilmiştir.

Kısaltmalar: AHKHN: Allojeneik hematopoietik kök hücre nakli, HLA:Human lökosit antijen, ÖKH:Ölçülebilir Kalıntı Hastalık, ATG:Anti-timosit globülin, aGVHH:Akut graft-versus-host hastalığı kGVHH: Kronik graft-versus-host hastalığı

6.3. AHKHN Sonrası Kimerizm İzlemi

AHKHN sonrası rutin takip tetkikleri içerisinde bulunan 28. gün, 2. ay, 3. ay, 6. ay ve 12. ay ayrışmamış ve T hücre kimerizmleri değerlendirmeye alındı. AML tanılı hastalar içinde ayrışmamış karma kimerizm saptanan hasta sayısı 28. günde 23 (%12,9), 2. ayda 31 (%19,9), 3. ayda 28 (%18,5), 6. ayda 24 (%20,3) 12. ayda 15 (%14,4); karma T kimerizmi saptanan hasta sayısı ise 28. günde 32 (%29,9), 2. ayda 28 (%24,6), 3. ayda 25 (%24), 6. ayda 16 (%18,6) ve 12. ayda 10 (%14,3) olarak bulundu. ALL tanılı hastalar içinde ayrışmamış karma kimerizm saptanan hasta sayısı 28. günde 5 (%7,2), 2. ayda 5 (%8,2), 3. ayda 12 (%19,7), 6. ayda 6 (%12,5) 12. ayda 3 (%6,7); karma T kimerizmi saptanan hasta sayısı ise 28. günde 7 (%15,9), 2. ayda 8 (%17,4), 3. ayda 8 (%20), 6. ayda 5 (%12,8) ve 12. ayda 5 (%15,6) olarak bulundu..

(Tablo 6.3)

Tablo 6.3: AML ve ALL hastalarının AHKHN sonrası kimerizm sonuçlarının değerlendirilmesi

Ayrışmamış Kimerizm	Hasta sayısı (%)		T Hücre Kimerizmi	Hasta sayısı (%)	
	AML(n=186)	ALL (n=78)		AML (n=186)	ALL (n=78)
28. gün, n=247	n=178	n=69	28. gün, n=151	n=107	n=44
Karma kimerizm	23 (12,9)	5 (7,2)	Karma kimerizm	32 (29,9)	7 (15,9)
Tam kimerizm	155 (87,1)	64 (92,8)	Tam kimerizm	75 (70,1)	37 (84,1)
2. ay, n=217	n=156	n=61	2. ay, n=160	n=114	n=46
Karma kimerizm	31 (19,9)	5 (8,2)	Karma kimerizm	28 (24,6)	8 (17,4)
Tam kimerizm	125 (80,1)	56 (91,8)	Tam kimerizm	86 (75,4)	38 (82,6)
3. ay, n=212	n=161	n=61	3. ay, n=144	n=104	n=40
Karma kimerizm	28 (18,5)	12 (19,7)	Karma kimerizm	25 (24)	8 (20)
Tam kimerizm	123 (81,5)	49 (80,3)	Tam kimerizm	79 (76)	32 (80)
6. ay, n=166	n=118	n=48	6. ay, n=125	n=86	n=39
Karma kimerizm	24 (20,3)	6 (12,5)	Karma kimerizm	16 (18,6)	5 (12,8)
Tam kimerizm	94 (79,7)	42 (87,5)	Tam kimerizm	70 (81,4)	34 (87,2)
12. ay, n=149	n=104	n=45	12. ay, n=102	n=70	n=32
Karma kimerizm	15 (14,4)	3 (6,7)	Karma kimerizm	10 (14,3)	5 (15,6)
Tam kimerizm	89 (85,6)	42 (93,3)	Tam kimerizm	60 (85,7)	27 (84,4)

Aşıkâr nüks gelişen 68 AML hastasının 26'sında (%38,24 [%95 GA: %26,71-%50,82]) kimerizm takibi ile karma kimerizm saptanması nüksü öngörebildi. Karma kimerizm saptanması ile nüks gelişimi arasında geçen ortalanca süre 60 (0-601) gün olarak bulundu. AHKHN sonrası nüks gelişen ve gelişmeyen AML hastalarında kimerizm durumu karşılaştırıldığında 28. gün ve 2. aylarda değerlendirilen ayrışmamış (sırasıyla p=0,78 ve p=0,17) ve T hücrelerde (sırasıyla p=0,19 ve p=0,091) karma kimerizm oranının her iki grupta istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği saptandı. 3. ay değerlendirmesinde nüks gelişen hastaların 20'si (%33,3) ayrışmamış karma kimerizm, 13'ü (%36,1) ise karma T hücre

kimerizmine sahipti. Nüks gelişen ve gelişmeyen hastalar karşılaştırıldığında karma kimerizm oran farklılığı istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p=0,036$). 6. ay değerlendirmesinde nüks gelişen gruptaki hastaların 16'sı (%32) ayrışmamış karma kimerizm, 10'u (%32,3) ise ayrışmamış T hücre kimerizmine sahipti. Nüks gelişen ve gelişmeyen hastalar karşılaştırıldığında karma kimerizm oran farklılığı istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla $p=0,007$ ve $p<0,015$). 12. ay değerlendirmesinde nüks gelişen gruptaki hastaların 13'ü (%36,1) ayrışmamış karma kimerizm, 8'i (%40) ise ayrışmamış T hücre kimerizmine sahipti. Nüks gelişen ve gelişmeyen hastalar karşılaştırıldığında karma kimerizm oran farklılığı istatistiksel olarak anlamlıydı (her iki kimerizm tipi için de $p<0,001$). (Tablo 6.4)

Tablo 6.4: AHKHN sonrası nüks gelişen ve nüks gelişmeyen AML hastalarının kimerizm sonuçlarının karşılaştırmalı değerlendirilmesi

Ayrışmamış kimerizm	Nüks gelişen (%)	Nüks gelişmeyen (%)	p değeri	T Hücre Kimerizmi	Nüks gelişen (%)	Nüks gelişmeyen (%)	p değeri
28. gün, n=178	n=65	n=113	0,78	28. gün, n= 107	n=37	n=70	0,19
Karma kimerizm	9 (13,8)	14 (12,4)		Karma kimerizm	14 (37,8)	18 (25,7)	
Tam kimerizm	56 (86,2)	99 (87,6)		Tam kimerizm	23 (62,2)	52 (74,3)	
2. ay, n=156	n=54	n=102	0,17	2. ay, n=114	n=38	n=76	0,091
Karma kimerizm	14 (25,9)	17 (16,7)		Karma kimerizm	13 (34,2)	15 (19,7)	
Tam kimerizm	40 (74,1)	85 (83,3)		Tam kimerizm	25 (65,8)	61 (80,3)	
3. ay, n=151	n=60	n=91	<0,001	3. ay, n=104	n=46	n=68	0,036
Karma kimerizm	20 (33,3)	8 (8,8)		Karma kimerizm	13 (36,1)	12 (17,6)	
Tam kimerizm	40 (66,7)	83 (91,2)		Tam kimerizm	23 (63,9)	56 (82,4)	
6. ay, n=118	n=50	n=68	0,007	6. ay, n=86	n=31	n=55	0,015
Karma kimerizm	16 (32)	8 (11,8)		Karma kimerizm	10 (32,3)	6 (10,9)	
Tam kimerizm	34 (68)	60 (88,2)		Tam kimerizm	21 (67,7)	49 (89,1)	
12 ay, n=104	n=36	n=68	<0,001	12 ay, n=70	n=20	n=50	<0,001
Karma kimerizm	13 (36,1)	2 (2,9)		Karma kimerizm	8 (40)	2 (4)	
Tam kimerizm	23 (63,9)	66 (97,1)		Tam kimerizm	12 (60)	48 (96)	

Aşık nüks gelişen 27 ALL hastasının 10'unda (%37,04 [%95 GA:%19,40 - %57,63]) kimerizm takibi ile karma kimerizm saptanması nüksü öngörebildi. Karma kimerizm saptanmasından nükse kadar geçen süre ortanca süre 40,5 (0-150) gün olarak bulundu AHKHN sonrası nüks gelişen ve gelişmeyen ALL hastalarında kimerizm durumu karşılaştırıldığında 28. gün, 2.ay ve 12.ayda değerlendirilen ayrışmamış (sırasıyla $p=0,16$, $p>0,99$, $p>0,99$) ve T hücrelerde (sırasıyla $p=0,66$, $p=0,681$, $p>0,99$) karma kimerizm oranının her iki grupta istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği saptandı. 3. ay değerlendirmesinde nüks gelişen gruptaki hastaların 7'si (%30,4) ayrışmamış karma kimerizm, 7'si (%50) ise ayrışmamış T hücre kimerizmine sahipti. Nüks gelişen ve gelişmeyen hastalar karşılaştırıldığında karma kimerizm oran farklılığı T hücre kimerizmi için istatistiksel olarak

anlamlıydı ($p<0,001$), ancak ayrıışmamış hücre kimerizmi için farklılık istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı ($p=0,18$). 6. ay değerlendirmesinde nüks gelişen gruptaki hastaların 5'i (%31,3) ayrıışmamış karma kimerizm, 4'ü (%28,6) ise ayrıışmamış T hücre kimerizmine sahipti. Nüks gelişen ve gelişmeyen hastalar karşılaştırıldığında karma kimerizm oran farklılığı istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla $p=0,012$ ve $p=0,047$). (Tablo 6.5)

Tablo 6.5: AHKHN sonrası nüks gelişen ve nüks gelişmeyen ALL hastalarının kimerizm sonuçlarının karşılaştırmalı değerlendirilmesi

Ayrıışmamış kimerizm	Nüks gelişen (%)	Nüks gelişmeyen (%)	p değeri	T Hücre Kimerizmi	Nüks gelişen (%)	Nüks gelişmeyen (%)	p değeri
28. gün, n=69	n=24	n=45	0,16	28. gün, n=44	n=14	n=30	0,66
Karma kimerizm	0 (0)	5 (11,1)		Karma kimerizm	3 (21,4)	4 (13,3)	
Tam kimerizm	24 (100)	40 (88,9)		Tam kimerizm	11 (78,6)	26 (86,7)	
2. ay, n=61	n=25	n=36	>0,99	2. ay, n=46	n=14	n=32	0,68
Karma kimerizm	2 (8)	3 (8,3)		Karma kimerizm	3 (21,4)	5 (15,6)	
Tam kimerizm	23 (92)	33 (91,7)		Tam kimerizm	11 (78,6)	27 (84,4)	
3. ay, n=51	n=23	n=38	0,18	3. ay, n=40	n=14	n=26	0,001
Karma kimerizm	7 (30,4)	5 (13,2)		Karma kimerizm	7 (50)	1 (3,8)	
Tam kimerizm	16 (69,6)	33 (86,8)		Tam kimerizm	7 (50)	25 (96,2)	
6. ay, n=48	n=16	n=32	0,012	6. ay, n=39	n=14	n=25	0,047
Karma kimerizm	5 (31,3)	1 (3,1)		Karma kimerizm	4 (28,6)	1 (4)	
Tam kimerizm	11 (68,8)	31 (96,9)		Tam kimerizm	10 (71,4)	24 (96)	
12 ay, n=45	n=12	n=33	>0,99	12 ay, n=32	n=7	n=25	>0,99
Karma kimerizm	1 (8,3)	2 (6,1)		Karma kimerizm	1 (14,3)	4 (16)	
Tam kimerizm	11 (91,7)	31 (93,9)		Tam kimerizm	6 (85,7)	21 (84)	

AHKHN sonrası nüks olan 68 AML hastasının nüks sırasındaki kimerizm sonuçları değerlendirildiğinde 16 (%23,5) hastanın tam kimerik olduğu saptandı. 27 ALL hastasının ise 10'unda (%37,7) nüks sırasında tam kimerizm bulunduğu saptandı.

6.4. AHKHN Sonrası Multiparametrik Akım Sitometri ile ÖKH İzlemi

AHKHN sonrası rutin takip tetkikleri içerisinde bulunan 28.gün, 3. ay ve 12. ay multiparametrik akım sitometri sonuçları değerlendirmeye alındı. AML hastalarından 28. günde sonuçlarına ulaşılabilen 183 hastanın 42'sinin (%23), 3. ayda sonuçlarına ulaşılabilen 158 hastanın 54'ünün (%34,2), 12. ayda sonuçlarına ulaşılabilen 86 hastanın 24'ü (%27,9) ÖKH pozitif olduğu bulundu. ALL hastalarından 28. günde sonuçlarına ulaşılabilen 74 hastanın 31'inin (%41,9), 3. ayda sonuçlarına ulaşılabilen 65 hastanın 33'ünün (%50,8), 12. ayda sonuçlarına ulaşılabilen 36 hastanın 11'inin (%30,6) ÖKH sonucu pozitif bulundu. (Tablo 6.6)

Tablo 6.6: AML ve ALL hastalarının AHKHN sonrası akım sitometri ile ÖKH sonuçlarının değerlendirilmesi

ÖKH durumu	Hasta Sayısı (%)	
	AML	ALL
28. gün, n=257	n=183	n=74
ÖKH negatif	141 (77)	43 (58,1)
ÖKH pozitif	42 (23)	31 (41,9)
3. ay, n=223	n=158	n=65
ÖKH negatif	104 (65,8)	32 (49,2)
ÖKH pozitif	54 (34,2)	33 (50,8)
12. ay, n=122	n=86	n=36
ÖKH negatif	62 (72,1)	25 (69,4)
ÖKH pozitif	24 (27,9)	11 (30,6)

Nakil öncesi hastalık durumu göz önüne alındığında AML tanılı 44 (%23,7) hasta aktif hastalık, 58 (%31,2) hasta ise morfolojik remisyonda ancak ÖKH pozitif olarak AHKHN yapıldı. Başlangıçta aktif hastalık olan 44 hastanın 31 (%70,4) tanesinde; ÖKH pozitif olan 58 hastanın 46 (%79,3) tanesinde nakil sonrası 28. günde ÖKH negatif tam remisyona saptandı. AHKHN sonrası nüks gelişen 68 AML hastanın 41'inde (%60,29 [%95 GA:%47,70 -%71,97]) ÖKH varlığı nüksü öngörebildi. Bu hastalarda ÖKH saptanmasından nükse kadar geçen ortalama süre 64 (0-830) gün olarak bulundu. AHKHN sonrası nüks gelişen ve gelişmeyen hastalarda ÖKH durumu karşılaştırıldığında 28. gün saptanan ÖKH pozitiflik oranının her iki grupta istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği bulundu ($p=0,19$). 3. ay kontrolünde ÖKH pozitifliği saptanan 54 hastanın 32'si nüks gelişen grupta 22'si ise nüks gelişmeyen gruptaydı, nüks gelişen ve gelişmeyen hastalar karşılaştırıldığında ÖKH pozitif hasta oranının farklılığı (sırasıyla %55,2 ve %22) istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$). 12. ay kontrolünde ÖKH pozitifliği saptanan 24 hastanın 19'ü nüks gelişen grupta 5'i ise nüks gelişmeyen gruptaydı, nüks gelişen ve gelişmeyen hastalar karşılaştırıldığında ÖKH pozitif hasta oranının farklılığı (sırasıyla %54,3 ve %9,8) istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$). (Tablo 6.7)

Nakil öncesi hastalık durumu göz önüne alındığında ALL tanılı 17 (%21,8) hasta aktif hastalık, 22 (%28,2) hasta ise morfolojik remisyonda ancak ÖKH pozitif olarak AHKHN yapıldı. Başlangıçta aktif hastalık olan 17 hastanın 10 (%58,8) tanesinde; ÖKH pozitif olan 22 hastanın 11 (%50) tanesinde nakil sonrası 28. günde ÖKH negatif tam remisyona saptandı. AHKHN sonrası nüks gelişen 27 ALL hastanın 15'inde (%55,56 [%95 GA:%35,33 - %74,52]) ÖKH pozitifliği nüksü öngörebildi. Bu hastalarda ÖKH pozitifliği saptanmasının ardından nükse kadar geçen median süre 81 (13-303) gün olarak bulundu. AHKHN sonrası nüks gelişen ve gelişmeyen hastalarda ÖKH durumu karşılaştırıldığında 28. gün ve 12. ayda saptanan ÖKH pozitiflik oranının her iki grupta istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği bulundu

(sırasıyla $p=0,58$ ve $0,25$). 3. ay kontrolünde ÖKH pozitifliği saptanan 33 hastanın 16'sı nüks gelişen grupta 17'si ise nüks gelişmeyen gruptaydı, nüks gelişen ve gelişmeyen hastalar karşılaştırıldığında ÖKH pozitif hasta oranının farklılığı (sırasıyla %66,7 ve %41,5) istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,05$). (Tablo 6.7)

Tablo 6.7: AHKHN sonrası nüks gelişen ve nüks gelişmeyen AML ve ALL hastalarının akım sitometri ile ÖKH sonuçlarının karşılaştırmalı değerlendirilmesi

ÖKH Durumu	AML (n=186)		p değeri	ALL (n=78)		p değeri
	Nüks gelişen (%)	Nüks gelişmeyen (%)		Nüks gelişen (%)	Nüks gelişmeyen (%)	
28 gün, n=257	n=67	n=126	0,19	n=26	n=48	0,58
ÖKH negatif	48 (71,6)	93 (80,2)		14 (53,8)	29 (60,4)	
ÖKH pozitif	19 (28,4)	23 (19,8)		12 (46,2)	19 (39,6)	
3 ay, n=223	n=58	n=100	<0,001	n=24	n=41	0,050
ÖKH negatif	26 (44,8)	78 (78)		8 (33,3)	24 (58,5)	
ÖKH pozitif	32 (55,2)	22 (22)		16 (66,7)	17 (41,5)	
12 ay, n=122	n=35	n=51	<0,001	n=11	n=25	0,25
ÖKH negatif	16 (45,7)	46 (90,2)		6 (54,5)	19 (76)	
ÖKH pozitif	19 (54,3)	5 (9,8)		5 (45,5)	6 (24)	

6.5. AHKHN Sonrası Moleküler ÖKH İzlemi

Merkezimizde değerlendirilen moleküler belirteçlerden en az biri pozitif olan 83 hastanın verisi değerlendirmeye alındı. Bu hastalardan 54'ü AML, 29'u ise ALL tanılıydı. AML tanısı olanların 19'unda (%35,1) *NPM1*, 17'sinde (%31,4) *FLT-3* (14 *FLT-3ITD* ve 3 *FLT-3 TKD*), 10'unda (%18,5), t(8;21), 8'inde (%14,8) inv(16), 5'inde (%9,2) t(9;22) ve 4'ünde (%7,4) t(4;11) pozitif saptanmıştır. ALL tanısı olanların ise 22'sinde (%75,8) t(9;22), 7'sinde (%24,1) t(4;11) pozitif bulunmuştur.

AML hastalarında nakil öncesi moleküler ÖKH bulunan hasta sayısı nüks gelişenlerde 12 (%75), nüks gelişmeyenlerde ise 15 (%55,6) olarak saptandı ($p=0,20$). 28.gün değerlendirmesinde moleküler ÖKH pozitifliği olan hasta sayısı nüks gelişenlerde 5 (%31,3), nüks gelişmeyenlerde 4 (%16) ($p=0,28$), 3. değerlendirmesinde moleküler ÖKH pozitifliği olan hasta sayısı nüks gelişenlerde 5 (%35,7), nüks gelişmeyenlerde 4 (%20) olarak bulundu ($p=0,44$). Nüks gelişen ve gelişmeyen hastaların moleküler ÖKH pozitiflik oranı arasındaki fark yalnızca 12. ayda istatistiksel anlamlılığa ulaştı; nüks gelişen hastalarda moleküler ÖKH pozitif olanların sayısı 4 (%50) iken nüks gelişmeyen hastaların hiçbirinde moleküler ÖKH pozitif değildi ($p=0,01$). (Tablo 6.8)

ALL hastalarında nakil öncesi moleküler ÖKH bulunan hasta sayısı nüks gelişenlerde 4 (%80), nüks gelişmeyenlerde ise 7 (%36,8) olarak saptandı ($p=0,14$). 28.gün değerlendirmesinde moleküler ÖKH pozitifliği olan hasta sayısı nüks gelişenlerde 1 (%25), nüks gelişmeyenlerde 4 (%25) ($p=0,99$), 3. değerlendirmesinde moleküler ÖKH pozitifliği olan hasta sayısı nüks gelişenlerde 2 (%50) iken nüks gelişmeyenlerin hiçbirinde moleküler ÖKH pozitif değildi. ($p=0,032$). 12. ayda her iki grupta da ÖKH pozitifliği saptanan hasta bulunmamaktaydı. (**Tablo 6.8**

Nüks olan AML hastalarından moleküler ÖKH verisi olan 19 hastanın 14'ünde (%73,68) ALL hastalarından ise moleküler ÖKH verisi olan 7 hastanın 5'inde (%71,4) nüks gelişmeden önce moleküler ÖKH pozitifliği görüldü.

Tablo 6.8: AHKHN sonrası nüks gelişen ve gelişmeyen AML ve ALL hastalarında moleküler ÖKH pozitifliğinin karşılaştırılması

Moleküler ÖKH pozitifliği	AML (n=54)			ALL (n=29)		
	Nüks gelişen (%)	Nüks gelişmeyen (%)	P değeri	Nüks gelişen (%)	Nüks gelişmeyen (%)	P değeri
Nakil öncesi, n=67	n=16	n=27	0,20	n=5	n=19	0,14
	12 (75)	15 (55,6)		4 (80)	7 (36,8)	
28 gün, n=61	n=16	n=25	0,28	n=4	n=16	>0,99
	5 (31,3)	4 (16)		1 (25)	4 (25)	
3. ay, n=54	n=14	n=20	0,44	n=4	n=16	0,032
	5 (35,7)	4 (20)		2 (50)	0 (0)	
12. ay, n=38	n=8	n=14	0,010	n=2	n=14	
	4 (50)	0 (0)		0(0)	0(0)	

6.6. AHKHN Sonrası Ekstramedüller Nüks

AHKHN sonrası nüks gelişen 68 AML hastasının 6 (%8,8) tanesinde izole ekstramedüller nüks, 2 (%2,9) tanesinde eş zamanlı ekstramedüller ve kemik iliği nüksü görüldü. İzole ekstramedüller nüks olan hastalar değerlendirildiğinde hem ÖKH hem karma kimerizm hastaların 3'ünde (%50) aşikar nüksü ön görebildi. Hastaların 1'inde (%16,6) nüks öncesi yalnızca karma kimerizm, 1'inde (%16,6) ise yalnızca akım sitometri ile ÖKH pozitifliği saptanmıştı. Eş zamanlı ekstramedüller ve kemik iliği nüksü olan 2 hastanın ise nüks öncesinde birinde yalnızca ÖKH pozitifliği saptanırken, diğer hastada hem ÖKH pozitifliği hem karma kimerizm görüldü. AHKHN sonrası nüks gelişen 27 ALL hastasının 9 (%33,3) tanesinde izole ekstramedüller nüks, 1'inde (%3,7) ise eş zamanlı ekstramedüller ve kemik iliği nüksü görüldü. İzole ekstramedüller nüks olan hastalar değerlendirildiğinde ÖKH hastaların 5'inde (%55,5), karma kimerizm ise 3'ünde (%33,3) nüksü öngörebildi. Karma kimerizm saptanan 3 hastanın da ÖKH değerlendirmeleri pozitifti. Eş zamanlı ekstramedüller ve kemik iliği nüksü olan 1 hastada ise nüks öncesinde ne ÖKH pozitifliği ne de karma kimerizm saptandı.

6.7. AHKHN Sonrası Nüksü Öngörmede Risk Faktörlerinin Karşılaştırılması

AML hastalarında AHKHN sonrası nüks gelişiminde rolü olan faktörlerin tek değişkenli analizinde erkek cinsiyet (HR:1,86, %95 GA:1,14-3,05, **p=0,014**), nakil öncesi aktif hastalık (HR:2,48, %95 GA:1,51-4,09, **p<0,001**), 3. ay ayırmamış karma kimerizm (HR:3,78, %95 GA: 2,20-6,48, **p<0,001**), 3. ay akım sitometride ÖKH varlığı (HR:2,69, %95 GA:1,43-5,04, **p=0,002**) nüks gelişimi ile ilişkili bulundu. kGVHH varlığı (HR:0,51, %95 GA:0,28-0,93, **p=0,028**) nüks gelişmesi ile negatif ilişkili bulundu. Veriler çok değişkenli analiz ile değerlendirildiğinde nakil öncesi aktif hastalık (HR:3,47, %95 GA:1,53-7,83, **p=0,003**), 3. ay ayırmamış karma kimerizm (HR:2,47, %95 GA: 1,10-5,56, **p=0,029**) ve 3. ay akım sitometride ÖKH pozitifliği (HR:3,69, %95GA 1,84-7,41, **p<0,001**) istatistiksel anlamlılığa ulaştı. (Tablo 6.8)

Tablo 6.9: AML hastalarında AHKHN sonrası nüks gelişiminde rolü olan faktörlerin değerlendirilmesi

AML Hastalarında AHKHN Sonrası Nüks	Tek Değişkenli Analiz		Çok Değişkenli Analiz	
	HR (%95 Güven Aralığı)	p değeri	HR (%95 Güven Aralığı)	p değeri
Erkek cinsiyet	1,86 (1,14-3,05)	0,014	1,81 (0,89-3,69)	0,10
Yaş	1,00 (0,98-1,01)	0,67	0,99 (0,97-1,01)	0,35
Kan grubu uyumsuzluğu	1,37 (0,84-2,21)	0,21	1,68 (0,79-3,55)	0,18
Nakilde aktif hastalık	2,48 (1,51-4,09)	<0,001	3,47 (1,53-7,83)	0,003
Yüksek risk	0,61 (0,36-1,05)	0,075	0,68 (0,31-1,49)	0,33
ATG kullanımı	1,39 (0,86-2,24)	0,18	1,74 (0,79-3,82)	0,17
kGVHH varlığı	0,51 (0,28-0,93)	0,028	0,72 (0,32-1,65)	0,44
3. ay ayırmamış karma kimerizm	3,78 (2,20-6,48)	<0,001	2,47 (1,10-5,56)	0,029
3. ay akım sitometri ile ÖKH pozitifliği	2,69 (1,43-5,04)	0,002	3,69 (1,84-7,41)	<0,001

Kısaltmalar: AHKHN:Allojeneik hematopoietik kök hücre nakli, ÖKH:Ölçülebilir Kalıntı Hastalık, ATG:Anti-timosit globülin, kGVHH: Kronik graft-versus-host hastalığı HR:Hazard ratio

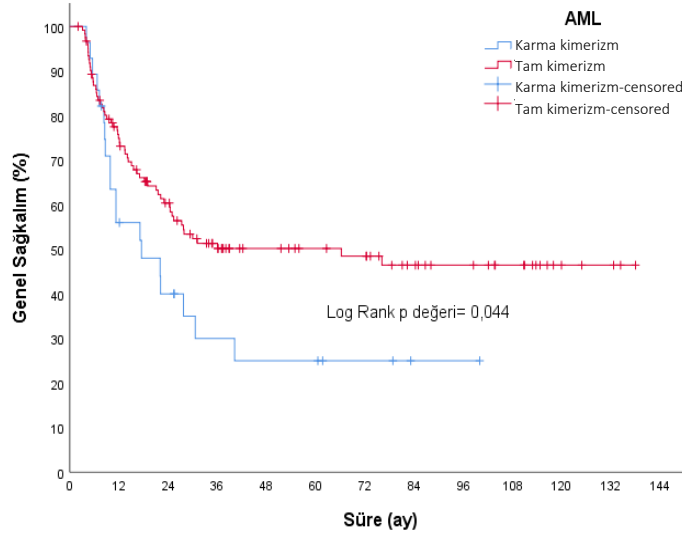
AML hastalarında AHKHN sonrası nüks gelişiminde rolü olan faktörlerin tek değişkenli analizinde nakil öncesi aktif hastalık (HR:3,24, %95 GA:1,37-7,68, **p=0,008**) ve 3. ayda ayırmamış karma kimerizm (HR:2,61, %95 GA:1,07-6,38, **p=0,036**) nüks gelişimi ile ilişkili bulundu. Veriler çok değişkenli analiz ile değerlendirildiğinde ise T-ALL alt tipi (HR:3,94, %95 GA:1,29-12,09, **p=0,016**) nüks gelişimi için olarak anlamlı bir risk faktörü olarak saptandı. Nakil sonrası 3. aydaki kimerizm durumu ve akım sitometri ile ÖKH pozitifliği istatistiksel anlamlılığa ulaşamadı.

Tablo 6.10: ALL hastalarında AHKHN sonrası nüks gelişiminde rolü olan faktörlerin değerlendirilmesi

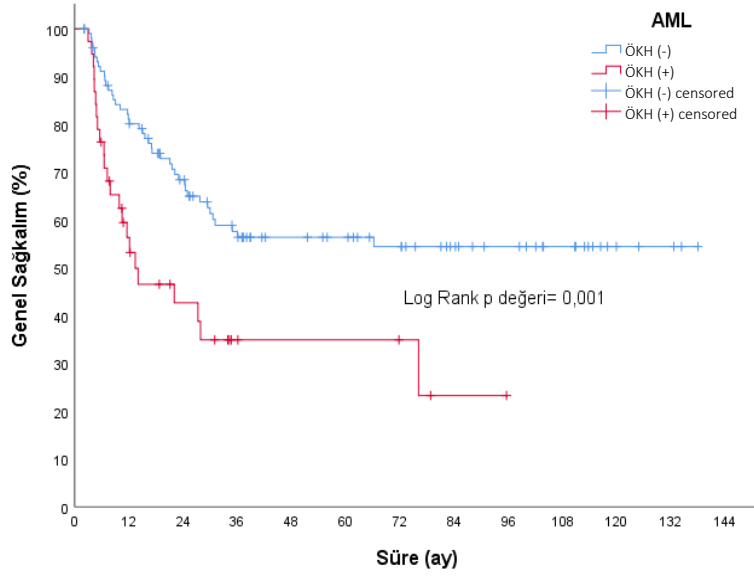
AML Hastalarında AHKHN Sonrası Nüks	Tek Değişkenli Analiz		Çok Değişkenli Analiz	
	HR (%95 Güven Aralığı)	p değeri	HR (%95 Güven Aralığı)	p değeri
T-ALL tanısı	1,67 (0,78-3,55)	0,19	3,94 (1,29-12,09)	0,016
Erkek cinsiyet	1,93 (0,78-4,78)	0,16	0,95 (0,26-3,54)	0,94
Yaş	1,01 (0,98-1,05)	0,52	1,04 (0,98-1,10)	0,16
Nakilde aktif hastalık	3,24 (1,37-7,68)	0,008	1,73 (0,30-10,03)	0,54
Yoğunluğu azaltılmış hazırlık rejimi	2,30 (0,68-7,74)	0,18	2,51 (0,31-20,74)	0,39
3. ay ayrışmamış karma kimerizm	2,61 (1,07-6,38)	0,036	0,66 (0,15-2,94)	0,59
3. ay akım sitometri ile ÖKH pozitifliği	1,73 (0,68-4,40)	0,25	2,38 (0,74-7,66)	0,15
Kısaltmalar: AHKHN:Allojeneik hematopoietik kök hücre nakli, ÖKH:Ölçülebilir Kalıntı Hastalık HR:Hazard ratio				

6.8. AHKHN sonrası Kimerizm ve Akım Sitometri ile ÖKH Sonuçlarının Sağkalım Üzerine Etkisi

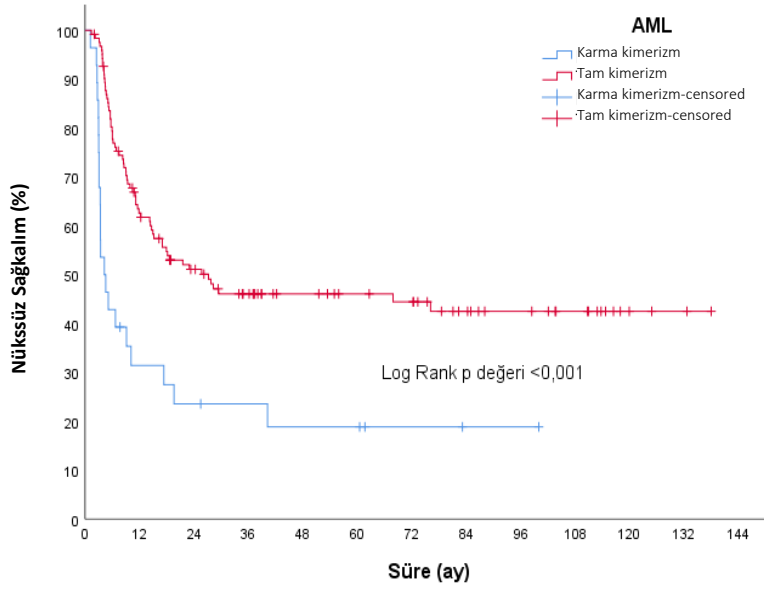
AML hastaları için AHKHN sonrası izlemde 3. ayda saptanan hem karma ayrışmamış kimerizm hem de akım sitometri ÖKH pozitifliğinin genel sağkalım (sırasıyla **p=0,044** ve **p=0,001**) ve nüksüz sağkalım (sırasıyla **p<0,001** ve **p<0,001**) üzerine negatif etkisi olduğu saptandı.



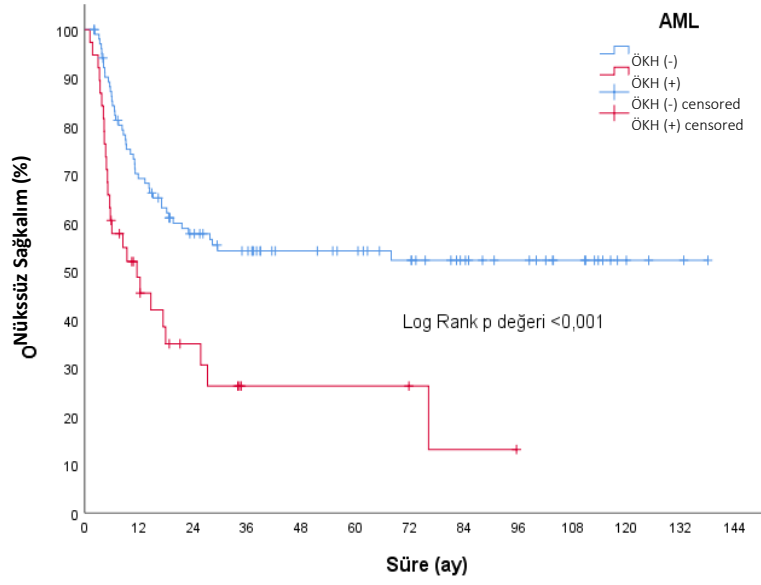
Şekil 6.1: AML hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ayrışmamış karma kimerizmin ile genel sağkalım ilişkisi



Şekil 6.2: AML hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ÖKH pozitifliği ile genel sağkalım ilişkisi

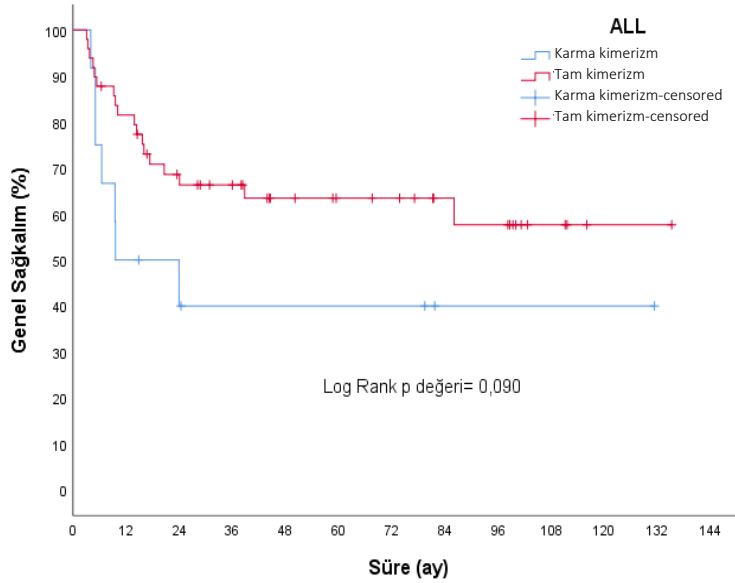


Şekil 6.3: AML hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ayrışmamış karma kimerizmin ile nüksüz sağkalım ilişkisi

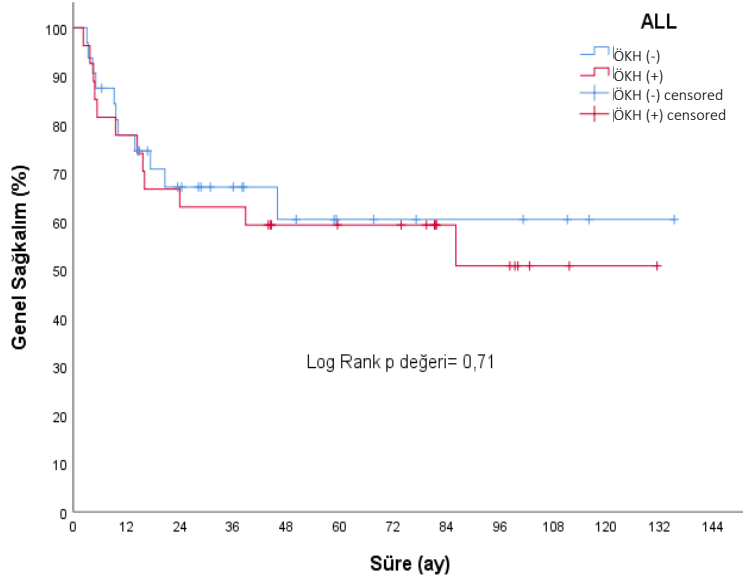


Şekil 6.4: AML hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ÖKH pozitifliği ile nüksüz sağkalım ilişkisi

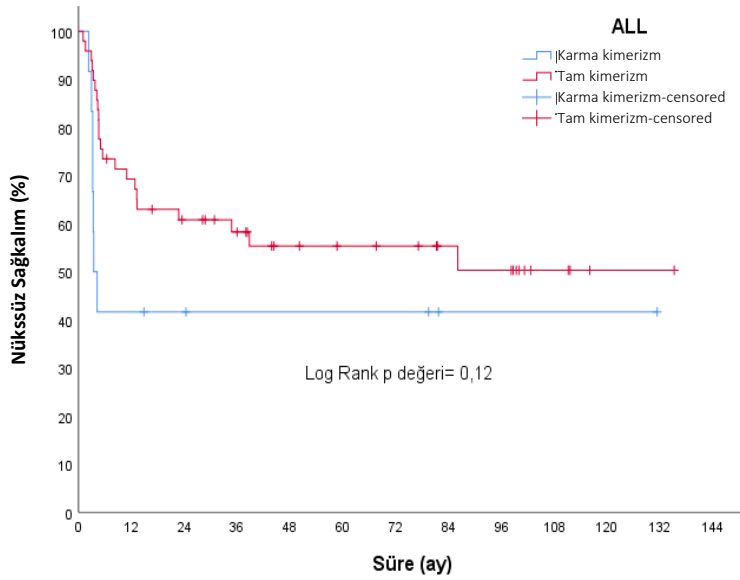
ALL hastaları için AHKHN sonrası izlemde 3. ayda saptanan hem karma ayrışmamış kimerizm hem de akım sitometri ÖKH pozitifliğinin genel sağkalım (sırasıyla $p=0,09$ ve $p=0,71$) ve nüksüz sağkalım (sırasıyla $p=0,12$ ve $p=0,21$) üzerindeki etkisi istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı.



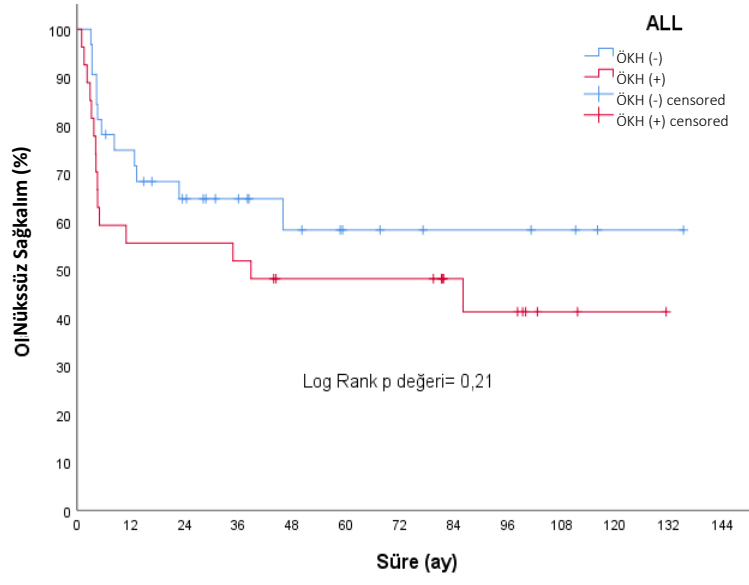
Şekil 6.5: ALL hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ayrışmamış karma kimerizmin ile genel sağkalım ilişkisi



Şekil 6.6: ALL hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ÖKH pozitifliği ile genel sağkalım ilişkisi



Şekil 6.7: ALL hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ayrışmamış karma kimerizmin ile nüksüz sağkalım ilişkisi



Şekil 6.8: ALL hastalarında AHKHN sonrası 3. ayda saptanan ÖKH pozitifliği ile nüksüz sağkalım ilişkisi

7. TARTIŞMA

AHKHN sonrası tedavi yanıtı ve sağkalım üzerine olumlu etkisi olabilecek temel önlemlerden biri nüks için yüksek riskli hasta alt gruplarını tanımlamaktır. Nakilden sonra artan alıcı kimerizmi seviyelerine sahip hastaların nüks açısından yüksek risk altında olduğu kaydedilmiştir (69, 80). Akım sitometri ile saptanan ÖKH pozitifliğinin indüksiyon ve konsolidasyon kemoterapisi sonrası ve hematopoietik kök hücre nakli öncesinde olumsuz sonuçlanımlarla ilişkili olduğu bilinmekte, nakil sonrası akım sitometrinin nakil sonrası ÖKH'nin saptanması için yararlı bir teknik olduğuna ilişkin kanıtlar da artmaktadır (7, 36-38). Bu iki yaklaşımdan hangisinin nüks açısından en iyi bilgilendirmeyi sağladığı, ne zaman ve nasıl değerlendirilmesi gerektiği ise belirsizliğini korumaktadır. Çalışmamızda AML ve ALL hastalarının nakil sonrası süreçte kimerizm ve akım sitometri ile ÖKH değerlendirilme sonuçlarının nüksü öngörmedeki prognostik etkisi araştırılmıştır.

AHKHN akut lösemi hastaları için küratif bir tedavi seçeneği olmakla birlikte nakil sonrası nüks gelişmesi tedavi başarısızlığının en önemli nedeni olmaya devam etmektedir. Çalışmamızda, nüks oranları literatürdeki verilere benzer olarak AML hastalarında %36,5 (68/186), ALL hastalarında ise %34,6 (27/78) olarak bulunmuştur (25, 81).

Çalışmamızda nüks olan ve olmayan AML hastaları değerlendirildiğinde 3. ay ve 12. ay ÖKH varlığı, karma ayrışmamış kimerizm ve karma T kimerizmi olan hastaların oranının nüks gelişen grupta daha yüksek olduğu saptanmıştır. Veriler çoklu değişken analizi ile değerlendirildiğinde AML hastalarında 3. ayda akım sitometri ile gösterilen ÖKH varlığının nüks için bağımsız bir risk faktörü olduğu bulunmuştur. Ayrıca AML hastalarında nakil sonrası 3. ayda ÖKH varlığının genel sağkalım ve nüksüz sağkalımda azalma ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Verilerimiz, nakil sonrası akım sitometri ile ÖKH varlığının nüks riski ve düşük sağkalım ile ilişkili olduğunu öne süren önceki çalışmaları doğrulamaktadır (82-85). Çalışmamızda 3. ayda ayrışmamış karma kimerizmin nüks için bağımsız bir risk faktörü olduğu ve daha düşük genel sağkalım ve nüksüz sağkalımla ilişkili olduğu saptanmıştır. Literatürde kimerizm izleminin AHKHN sonrası nüksü öngördüğüne dair çalışmalar (86, 87) bulunmakla birlikte duyarlılık ve özgüllüğünün düşük olduğuna dikkat çekilmektedir (5). Bernal T ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada AML ve MDS tanısı ile allojeneik hematopoietik kök hücre nakli yapılan hastaların 100. gün akım sitometrik ÖKH varlığının nüksü ön görmede en güçlü prognostik faktör olduğu ve genel sağkalım ve nüksüz sağkalım ile negatif ilişkili olduğu saptanmıştır. 100. günde karma CD3 kimerizmin nüks riskini bağımsız olarak artırdığı ancak istatistiksel açıdan anlamlılık sınırında kaldığı bulunmuştur. 100. günde karma CD3

kimerizmi olan hastalar tam kimerik hastalarla kıyaslandığında nüksün kümülatif insidansı daha yüksek saptandığı halde karma kimerizm ile genel sağkalım ve nüksüz sağkalım arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (88).

Nüks olan ve olmayan ALL hastaları karşılaştırıldığında 3. ay değerlendirmesinde ÖKH varlığı, 6. ay değerlendirmesinde karma ayrışmamış kimerizm ve 3. ve 6. ay değerlendirmesinde karma T kimerizmi olan hastaların oranının nüks gelişen grupta daha yüksek olduğu saptanmıştır. Veriler çoklu değişken analizi ile değerlendirildiğinde ALL hastalarında 3. ayda ÖKH varlığı ve karma kimerizm ile nüks arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Benzer şekilde sağkalım analizlerinde de ÖKH varlığı ve karma kimerizmin sağkalıma olan etkisi istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Literatürde erişkin ALL hastalarında nakil sonrası hem nakil sonrası ÖKH varlığı hem de karma kimerizm saptanmasının nüksü artırdığı ve sağkalımı azalttığını gösteren çalışmalar vardır (6, 62, 89, 90). Hangi yöntemin nüksü ve nakil sonuçlarını daha güçlü gösterdiğinin irdelendiği Terwey TH ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada ALL tanısı ile AHKHN yapılan hastalarda nakil sonrası moleküler ÖKH belirteçleri olarak *BCR/ABL* ve *Ig/TCR* genleri ve CD34+ kimerizm sonuçları değerlendirilmiş, hem ÖKH varlığı hem CD34+ kimerizmin %95'in altında olmasının nüks ve genel sağkalım için prognostik olduğu bulunmuştur. ÖKH pozitifliğinin nüksü saptamada kimerizm ile karşılaştırıldığında daha sensitif (sırasıyla %86 ve %79) ve spesifik (%95 ve %70) olarak saptanmıştır (91). Çalışmamızda ALL hastaları için örneklem büyüklüğünün sınırlı kalması ve hastaların geriye dönük taranması nedeniyle eksik verilerin varlığı sonuçlarımızın literatürden farklı olduğu düşünülmektedir.

Nüks gelişen 68 AML hastasının nüks öncesi ÖKH ve kimerizm verileri değerlendirildiğinde 41 hastada (%60,2) akım sitometrik ÖKH pozitifliğinin nüksü ön görebildiği bulundu. Karma kimerizmin nüksü öngörebildiği 26 (%38) hastaların tamamı ÖKH pozitifliği de saptanmış olan hastalardı. ALL için de benzer şekilde nüks gelişen 27 hastanın 15'inde (%55,5) nüks öncesi ÖKH pozitifliği gelişmişti ve karma kimerizmin nüksü ön görebildiği 10 (%37,0) hastanın tamamı ÖKH pozitifliği de saptanmış olan hastalardı. Pincez ve arkadaşları tarafından 2021'de yayınlanan pediatrik lösemi hastalarında yapılan bir çalışmada nüks gelişen hastaların %40'ında (6/15) tek başına akım sitometri ile %89'unda (16/18) ise akım sitometri ve RT-qPCR ile ÖKH izleminin nüksü tahmin edebildiği gösterilmiştir. Nüks gelişen hastaların %27'inde (6/22) nüks öncesi kimerizm kaybı görülmüştür ancak bunun hiçbir hastada ÖKH pozitifliğinden önce gelişmediği kaydedilmiştir (92). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde karma kimerizmin tek başına aşıkâr nüksü

öngörememiştir. Kimerizm, tüm lösemi alt tiplerine uygulanma avantajına sahip olsa da sonuçlarımız literatürde STR kimerizmin duyarlılığını düşük olarak saptayan çalışmaları doğrulamaktadır (5). Kimerizm izleminin duyarlılığı STR-PCR yerine RT-qPCR tabanlı SNP ve INDEL değerlendirmeleri ile geliştirilebilir ancak bu karmaşık ve pahalı teknikler yaygın olarak kullanılmamaktadır (1, 76).

AHKHN sonrası ÖKH veya kimerizm izlemi aşıkâr nüks tahminin yanı sıra nüks gelişmeden önleyici müdahalelere izin vermelidir. Bizim çalışmamızda AML hastalarında ÖKH saptanmasından ortalanca 64 gün, karma kimerizm saptanmasından ortalanca 60 gün sonra aşıkâr nüks geliştiği bulunmuştur. ALL hastaları için bu süreler ÖKH pozitifliğinden ortalanca 80 gün, karma kimerizm saptanmasından ise ortalanca 40 gün olarak bulunmuştur. Pincez T ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada yoğunlaştırılmış pediatrik akut lösemi hastalarında ÖKH saptanmasından aşıkâr nüks kadar geçen ortalanca süre 2.2 ay (0.7-17) karma kimerizm saptanmasından nüks kadar geçen ortalanca süre 0.79 ay (0.29 – 16.75) olarak bulunmuştur (92). Terwey TH ve arkadaşları tarafından yapılan ALL hastalarının incelendiği çalışmada ise bu süreler ÖKH için 173 (0-2373), karma kimerizm için ise 116 (0-2639) olarak bulunmuştur (91). Çalışmamızda kimerizm izleminde 28.gün, 2. ay, 3. ay, 6. ay ve 12. ay sonuçları değerlendirilmeye alınırken ÖKH izleminde yalnızca 28. gün, 3. ay ve 12. ay sonuçları değerlendirmeye alınmıştır. Kimerizm takibinin ÖKH'dan daha sık yapılmasının literatür örneklerinde olduğu gibi nüks kadar geçen sürenin ÖKH lehine olarak sonuçlanmasını engellediği düşünülmüştür.

Çalışmamızda AML hastalarının 6'sında (%8,8), ALL hastalarının ise 9'unda (%33) izole ekstramedüller nüks geliştiği saptandı. Bu sınırlı hasta grubunda ÖKH ve kimerizm takibi değerlendirildiğinde AML hastalarında her ikisinin eşit olarak de 3'er (%50) hastada nüksü ön gördüğü bulundu. ALL tanısı olanlarda ise nüks öncesi ÖKH pozitifliği gelişen hasta sayısı 5 (%55,5) iken nüks öncesi karma kimerizm saptanan hasta sayısı 3 (%33,3) olarak bulundu. Terwey TH ve arkadaşlarının ALL hastalarını incelediği çalışmalarında nüks olan 29 hastanın 9'unda (%31) ekstramedüller nüks geliştiği, bu hastaların ÖKH verilerinin olmadığı ve tamamında nüks öncesi kimerizm kaybı görüldüğü bildirilmiştir (91).

Bizim çalışmamızda takip için moleküler hedefi olan hasta sayısı kısıtlı olmakla birlikte RT-qPCR'ın AHKHN sonrası nüksü AML hastalarının %73'ünde (14/19), ALL hastalarının %71,4'ünde (5/7) öngörebildiği saptandı. RT-qPCR ile moleküler ÖKH takibi son yıllarda öne çıkan ve akım sitometriyle kıyaslandığında standardizasyon eksikliği olan bir yöntemdir. Tanısal önemi transkripte, transkriptin onkojenik potansiyeline ve onu taşıyan kalıntı hücre

sayısına bağlıdır. Multiparametrik akım sitometrinin her lösemi türü için uygulanabilirlik ve lösemik hücre yükünü göstermek gibi avantajları olsa da çalışmalar RT-qPCR'ın duyarlılığının daha yüksek olduğunu göstermektedir (40, 46, 93).

AML hastalarında AHKHN sonrası hastalık nüksü ile risk faktörlerini ele alan çalışmalarda nakil öncesi TR dışı durum, yüksek riskli sitogenetik ve moleküler belirteçlerin varlığı hastalığa özgü riskler arasında yer alırken, RIC hazırlık rejimleri, ATG kullanımını da içeren yoğun GVHH profilaksisi ve kGVHH yokluğu nakil süreci ile ilişkili faktörler olarak gösterilmiştir (25). Çalışmamızda tek değişkenlik analiz sonucunda erkek cinsiyet, nakilde aktif hastalık varlığı, 3. ayda ayrışmamış karma kimerizm saptanması ve 3. ayda ÖKH pozitifliğinin nüks riskini artırdığı, kGVHH varlığının ise nüks riskini azalttığı saptanmıştır. Çok değişkenli analizde ise yalnızca nakilde aktif hastalık varlığı, 3. ayda ayrışmamış karma kimerizm saptanması ve 3. ayda ÖKH pozitifliğinin nüks için prognostik olduğu saptanmıştır. GVHH profilaksisinde ATG kullanımının GvL etkisini azaltarak nüks riskini artırdığına dair çalışmalar nedeniyle AHKHN yapılan hastalarda ATG kullanımı tartışmalıdır (94-96). Bizim çalışmamızda ATG kullanımının nüks üzerine etkisi bulunmamıştır. Güncel literatürün aksine bizim çalışmamızda nüks ile nakil öncesi ÖKH varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ayrıca nüks gelişmeyen grupta yüksek riske sahip hastaların oranı nüks gelişen gruptaki hastalardan daha yüksek (sırasıyla %44,1 ve %26,5) saptanmış, çok değişkenli analizde de yüksek risk nüks için prognostik bulunmamıştır. Literatür ile karşılaştırıldığında sonuçlarımızda belirgin farklılık görülmesinin nedeninin 28. gün kontrol kemik iliği biyopsisi aktif hastalık ile uyumlu olan veya 28. günden önce exitus olan hastaların çalışma dışı bırakılması, bunun sonucunda en kötü gidişli hasta grubunun değerlendirme dışı kalması olduğu düşünülmektedir.

ALL hastalarında AHKHN sonrası hastalık nüksü ile risk faktörlerini ele alan çalışmalarda nakil öncesi TR dışı durum, nakil öncesi ÖKH varlığı ve kGVHH yokluğunun nüks riskini artırdığı gösterilmiştir (81, 91, 97). Çalışmamızda tek değişkenlik analiz sonucunda nakilde aktif hastalık varlığı ve 3. ayda ayrışmamış karma kimerizm saptanması nüks ile ilişkili bulunurken çok değişkenli analizde ise yalnızca T-ALL tanısının nüks için bağımsız bir prognostik olduğu saptanmıştır. T-ALL, biyolojik olarak B-ALL'den farklıdır. Tedavilerinde çok benzer rejimler kullanılmasına rağmen, T-ALL'nin B-ALL'den daha kötü sonuçlanımlarla ilişkili olduğu gözlemlendiğini bildiren çalışmalar mevcuttur (98).

Çalışmamızın temel kısıtlılıkları tek merkezli ve retrospektif bir çalışma olmasıdır. Retrospektif bir çalışma olmasının dezavantajı olarak veri eksikliklerinin bulunması özellikle hasta sayısının daha az olduğu ALL grubunda literatürlerle uyumlu sonuçların bulunmasını istatistiksel açıdan engellemiş olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızın bir diğer zayıf noktası ise ÖKH pozitifliği veya kimerizm kaybı saptanması durumunda yapılan immünsupresif tedavi azaltılması, hedefe yönelik tedavi ajanları, kemoterapi veya DLI gibi müdahaleleri kontrol etmemiş oluşumuzdur. Bu durum geriye dönük taradığımız hastaların sonuçlarını etkilemiş olabileceği düşünülmüştür.



8. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda AML ve ALL hastalarının AHKHN sonrası süreçte STR-PCR ile kimerizm izlemi ve MFC ile ÖKH değerlendirilme sonuçlarının nüksü öngörmedeki etkinliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

AML hastalarında nüks olan ve olmayan hastalar karşılaştırıldığında 3. aydan itibaren ÖKH pozitifliği ve karma kimerizm nüks olan hastalarda daha yüksek oranda saptanmıştır. Nüks olan hastalarda ÖKH varlığı nüksü karma kimerizme kıyasla daha yüksek duyarlılıkta (sırasıyla %60,29 ve %38,24) saptanmıştır. 3. ayda saptanan ÖKH varlığı ve ayrışmamış karma kimerizm nüks gelişimi, genel sağkalım ve nüksüz sağkalım açısından prognostik öneme sahiptir. Nüks gelişiminde etkili olan prognostik faktörler değerlendirildiğinde 3. ayda ÖKH saptanmasının nüks riskini en çok artıran faktör olduğu bulunmuştur.

ALL hastalarında ise nüks olan ve olmayan hastalar karşılaştırıldığında 3. ay ÖKH pozitifliği ve T hücre karma kimerizminin, 6. ayda ise T hücre ve ayrışmamış karma kimerizmin nüks olan hastalarda daha yüksek olduğu bulunmuştur. AML’de olduğu gibi ALL’de de nüks olan hastalarda ÖKH varlığı nüksü karma kimerizme kıyasla daha yüksek duyarlılıkta (sırasıyla %55,56 ve %37,06) saptanmıştır. AML’nin aksine 3. ayda saptanan ÖKH varlığı ve ayrışmamış karma kimerizm nüks gelişimi, genel sağkalım ve nüksüz sağkalım için prognostik bir risk faktörü olarak bulunmamıştır.

Sonuç olarak, AHKHN sonrası nüks tedavisindeki son gelişmeler, mevcut nüks tahmin yöntemlerinin optimal değerlendirilmelerini daha önemli hale getirmiştir. Çalışmamız AML hastaları için MFC ile ÖKH tespitinin STR-PCR ile kimerizm analizine göre üstünlüğünü ortaya koymaktadır. Kimerizm ÖKH belirteci taşımayan hastalar için dinamik yönleri de göz önüne alınarak klinikte faydalı bir araç olarak kullanılabilir. Her iki yöntem için de ölçüm aralıkları için standartlar ve tedaviyi başlatmak için eşik tanımları belirsizliğini korumaktadır. Erken müdahaleleri kolaylaştırmak amacıyla bu yöntemlerin optimal kullanımını belirlemek için ileriye dönük çalışmalara ihtiyaç vardır.

9. KAYNAKLAR

1. Alizadeh M, Bernard M, Danic B, Dauriac C, Birebent B, Lapart C, et al. Quantitative assessment of hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation by real-time quantitative polymerase chain reaction. *Blood*. 2002;99(12):4618-25.
2. Contreras Yametti GP, Ostrow TH, Jasinski S, Raetz EA, Carroll WL, Evensen NA. Minimal Residual Disease in Acute Lymphoblastic Leukemia: Current Practice and Future Directions. *Cancers (Basel)*. 2021;13(8).
3. Walter RB, Ofran Y, Wierzbowska A, Ravandi F, Hourigan CS, Ngai LL, et al. Measurable residual disease as a biomarker in acute myeloid leukemia: theoretical and practical considerations. *Leukemia*. 2021;35(6):1529-38.
4. Clark JR, Scott SD, Jack AL, Lee H, Mason J, Carter GI, et al. Monitoring of chimerism following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT): technical recommendations for the use of short tandem repeat (STR) based techniques, on behalf of the United Kingdom National External Quality Assessment Service for Leucocyte Immunophenotyping Chimerism Working Group. *Br J Haematol*. 2015;168(1):26-37.
5. Lee HC, Saliba RM, Rondon G, Chen J, Charafeddine Y, Medeiros LJ, et al. Mixed T Lymphocyte Chimerism after Allogeneic Hematopoietic Transplantation Is Predictive for Relapse of Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(11):1948-54.
6. Kruse A, Abdel-Azim N, Kim HN, Ruan Y, Phan V, Ogana H, et al. Minimal Residual Disease Detection in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Int J Mol Sci*. 2020;21(3).
7. Short NJ, Zhou S, Fu C, Berry DA, Walter RB, Freeman SD, et al. Association of Measurable Residual Disease With Survival Outcomes in Patients With Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2020;6(12):1890-9.
8. Mavroudis D, Barrett J. The graft-versus-leukemia effect. *Curr Opin Hematol*. 1996;3(6):423-9.
9. Takami A. Hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia. *Int J Hematol*. 2018;107(5):513-8.

10. Bittencourt MCB, Ciurea SO. Recent Advances in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26(9):e215-e21.
11. Kanate AS, Perales MA, Hamadani M. Eligibility Criteria for Patients Undergoing Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *J Natl Compr Canc Netw.* 2020;18(5):635-43.
12. Toprak SK. Conditioning Therapy: Principles, Myeloablative, Reduced Toxicity and Non Myeloablative Regimens. *Turkiye Klinikleri J Hematol-Special Topics.* 2018;11(1):15-29.
13. Gomez-Arteaga A, Gyurkocza B. Recent advances in allogeneic hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia. *Curr Opin Hematol.* 2020;27(2):115-21.
14. Giebel S, Marks DI, Boissel N, Baron F, Chiaretti S, Ciceri F, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for adults with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in first remission: a position statement of the European Working Group for Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (EWALL) and the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant.* 2019;54(6):798-809.
15. Lee SJ, Fairclough D, Parsons SK, Soiffer RJ, Fisher DC, Schlossman RL, et al. Recovery after stem-cell transplantation for hematologic diseases. *J Clin Oncol.* 2001;19(1):242-52.
16. Sahin U, Toprak SK, Atilla PA, Atilla E, Demirer T. An overview of infectious complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Infect Chemother.* 2016;22(8):505-14.
17. Hierlmeier S, Eyrych M, Wölfl M, Schlegel PG, Wiegering V. Early and late complications following hematopoietic stem cell transplantation in pediatric patients - A retrospective analysis over 11 years. *PLoS One.* 2018;13(10):e0204914.
18. Atilla E, Atilla PA, Toprak SK, Demirer T. A review of late complications of allogeneic hematopoietic stem cell transplantations. *Clin Transplant.* 2017;31(10).
19. Majhail NS. Long-term complications after hematopoietic cell transplantation. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2017;10(4):220-7.
20. Hamilton BK. Current approaches to prevent and treat GVHD after allogeneic stem cell transplantation. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2018;2018(1):228-35.

21. Aladağ E, Kelkitli E, Göker H. Acute Graft-Versus-Host Disease: A Brief Review. *Turk J Haematol.* 2020;37(1):1-4.
22. Lee SJ, Vogelsang G, Flowers ME. Chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2003;9(4):215-33.
23. Hong S, Rybicki L, Corrigan D, Hamilton BK, Sobecks R, Kalaycio M, et al. Survival following relapse after allogeneic hematopoietic cell transplantation for acute leukemia and myelodysplastic syndromes in the contemporary era. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2021;14(4):318-26.
24. Bejanyan N, Weisdorf DJ, Logan BR, Wang HL, Devine SM, de Lima M, et al. Survival of patients with acute myeloid leukemia relapsing after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a center for international blood and marrow transplant research study. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;21(3):454-9.
25. Tsirigotis P, Byrne M, Schmid C, Baron F, Ciceri F, Esteve J, et al. Relapse of AML after hematopoietic stem cell transplantation: methods of monitoring and preventive strategies. A review from the ALWP of the EBMT. *Bone Marrow Transplant.* 2016;51(11):1431-8.
26. Fang M, Storer B, Estey E, Othus M, Zhang L, Sandmaier BM, et al. Outcome of patients with acute myeloid leukemia with monosomal karyotype who undergo hematopoietic cell transplantation. *Blood.* 2011;118(6):1490-4.
27. Rautenberg C, Germing U, Haas R, Kobbe G, Schroeder T. Relapse of Acute Myeloid Leukemia after Allogeneic Stem Cell Transplantation: Prevention, Detection, and Treatment. *Int J Mol Sci.* 2019;20(1).
28. Heuser M, Freeman SD, Ossenkoppele GJ, Buccisano F, Hourigan CS, Ngai LL, et al. 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood.* 2021;138(26):2753-67.
29. Martino R, de Wreede L, Fiocco M, van Biezen A, von dem Borne PA, Hamladji RM, et al. Comparison of conditioning regimens of various intensities for allogeneic hematopoietic SCT using HLA-identical sibling donors in AML and MDS with <10% BM blasts: a report from EBMT. *Bone Marrow Transplant.* 2013;48(6):761-70.
30. Stern M, de Wreede LC, Brand R, van Biezen A, Dreger P, Mohty M, et al. Sensitivity of hematological malignancies to graft-versus-host effects: an EBMT megafile analysis. *Leukemia.* 2014;28(11):2235-40.

31. Goldstone AH, Richards SM, Lazarus HM, Tallman MS, Buck G, Fielding AK, et al. In adults with standard-risk acute lymphoblastic leukemia, the greatest benefit is achieved from a matched sibling allogeneic transplantation in first complete remission, and an autologous transplantation is less effective than conventional consolidation/maintenance chemotherapy in all patients: final results of the International ALL Trial (MRC UKALL XII/ECOG E2993). *Blood*. 2008;111(4):1827-33.
32. Malard F, Mohty M. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*. 2020;395(10230):1146-62.
33. Hourigan CS, Karp JE. Minimal residual disease in acute myeloid leukaemia. *Nat Rev Clin Oncol*. 2013;10(8):460-71.
34. Ngai LL, Kelder A, Janssen J, Ossenkoppele GJ, Cloos J. MRD Tailored Therapy in AML: What We Have Learned So Far. *Front Oncol*. 2020;10:603636.
35. Hourigan CS, Gale RP, Gormley NJ, Ossenkoppele GJ, Walter RB. Measurable residual disease testing in acute myeloid leukaemia. *Leukemia*. 2017;31(7):1482-90.
36. Ossenkoppele GJ, Schuurhuis GJ. MRD in AML: it is time to change the definition of remission. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2014;27(3-4):265-71.
37. Berry DA, Zhou S, Higley H, Mukundan L, Fu S, Reaman GH, et al. Association of Minimal Residual Disease With Clinical Outcome in Pediatric and Adult Acute Lymphoblastic Leukemia: A Meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2017;3(7):e170580.
38. Ribera JM, Oriol A, Morgades M, Montesinos P, Sarrà J, González-Campos J, et al. Treatment of high-risk Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in adolescents and adults according to early cytologic response and minimal residual disease after consolidation assessed by flow cytometry: final results of the PETHEMA ALL-AR-03 trial. *J Clin Oncol*. 2014;32(15):1595-604.
39. Campana D, Leung W. Clinical significance of minimal residual disease in patients with acute leukaemia undergoing haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol*. 2013;162(2):147-61.
40. Della Starza I, Chiaretti S, De Propriis MS, Elia L, Cavalli M, De Novi LA, et al. Minimal Residual Disease in Acute Lymphoblastic Leukemia: Technical and Clinical Advances. *Front Oncol*. 2019;9:726.
41. Brüggemann M, Kotrova M. Minimal residual disease in adult ALL: technical aspects and implications for correct clinical interpretation. *Blood Adv*. 2017;1(25):2456-66.

42. Kotrova M, Volland A, Kehden B, Trautmann H, Ritgen M, Wäsch R, et al. Comparison of minimal residual disease levels in bone marrow and peripheral blood in adult acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2020;34(4):1154-7.
43. Zeijlemaker W, Kelder A, Oussoren-Brockhoff YJ, Scholten WJ, Snel AN, Veldhuizen D, et al. Peripheral blood minimal residual disease may replace bone marrow minimal residual disease as an immunophenotypic biomarker for impending relapse in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2016;30(3):708-15.
44. Godwin CD, Zhou Y, Othus M, Asmuth MM, Shaw CM, Gardner KM, et al. Acute myeloid leukemia measurable residual disease detection by flow cytometry in peripheral blood vs bone marrow. *Blood*. 2021;137(4):569-72.
45. Al-Mawali A, Gillis D, Hissaria P, Lewis I. Incidence, sensitivity, and specificity of leukemia-associated phenotypes in acute myeloid leukemia using specific five-color multiparameter flow cytometry. *Am J Clin Pathol*. 2008;129(6):934-45.
46. Andreani G, Cilloni D. Strategies for minimal residual disease detection: current perspectives. *Blood Lymphat Cancer*. 2019;9:1-8.
47. Sui JN, Chen QS, Zhang YX, Sheng Y, Wu J, Li JM, et al. Identifying leukemia-associated immunophenotype-based individualized minimal residual disease in acute myeloid leukemia and its prognostic significance. *Am J Hematol*. 2019;94(5):528-38.
48. Voso MT, Ottone T, Lavorgna S, Venditti A, Maurillo L, Lo-Coco F, et al. MRD in AML: The Role of New Techniques. *Front Oncol*. 2019;9:655.
49. Wood BL. Acute Myeloid Leukemia Minimal Residual Disease Detection: The Difference from Normal Approach. *Curr Protoc Cytom*. 2020;93(1):e73.
50. Schuurhuis GJ, Heuser M, Freeman S, Béné MC, Buccisano F, Cloos J, et al. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood*. 2018;131(12):1275-91.
51. Riva G, Nasillo V, Ottomano AM, Bergonzini G, Paolini A, Forghieri F, et al. Multiparametric Flow Cytometry for MRD Monitoring in Hematologic Malignancies: Clinical Applications and New Challenges. *Cancers (Basel)*. 2021;13(18).
52. Chen X, Wood BL. Monitoring minimal residual disease in acute leukemia: Technical challenges and interpretive complexities. *Blood Rev*. 2017;31(2):63-75.

53. De Marchi F, Candoni A, Zannier ME, Haley L, Lau BW, Fanin R. Concomitant monitoring of WT1 and FLT3-ITD expression in FLT3-ITD acute myeloid leukemia patients: which should we trust as a minimal residual disease marker? *Am J Hematol.* 2017;92(5):E72-e4.
54. Levine RL, Valk PJM. Next-generation sequencing in the diagnosis and minimal residual disease assessment of acute myeloid leukemia. *Haematologica.* 2019;104(5):868-71.
55. Yoest JM, Shirai CL, Duncavage EJ. Sequencing-Based Measurable Residual Disease Testing in Acute Myeloid Leukemia. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:249.
56. Sargın D. Graft Fonksiyonu ve Kimerizm. 7Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi; Antalya2012.
57. Bader P, Niethammer D, Willasch A, Kreyenberg H, Klingebiel T. How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation? *Bone Marrow Transplant.* 2005;35(2):107-19.
58. Delie A, Verlinden A, Beel K, Deeren D, Mazure D, Baron F, et al. Use of chimerism analysis after allogeneic stem cell transplantation: Belgian guidelines and review of the current literature. *Acta Clin Belg.* 2020:1-9.
59. Wiedemann B, Klyuchnikov E, Kröger N, Zabelina T, Stahl T, Zeschke S, et al. Chimerism studies with quantitative real-time PCR in stem cell recipients with acute myeloid leukemia. *Exp Hematol.* 2010;38(12):1261-71.
60. Koreth J, Kim HT, Nikiforow S, Milford EL, Armand P, Cutler C, et al. Donor chimerism early after reduced-intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation predicts relapse and survival. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20(10):1516-21.
61. Ahci M, Stempelmann K, Buttkereit U, Crivello P, Trilling M, Heinold A, et al. Clinical Utility of Quantitative PCR for Chimerism and Engraftment Monitoring after Allogeneic Stem Cell Transplantation for Hematologic Malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017;23(10):1658-68.
62. Chen CT, Gau JP, Liu JH, Chiou TJ, Hsiao LT, Liu YC. Early achievement of full donor chimerism after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation predicts lower relapse risk in patients with acute lymphoblastic leukemia. *J Chin Med Assoc.* 2018;81(12):1038-43.

63. Thiede C, Lutterbeck K, Oelschlägel U, Kiehl M, Steudel C, Platzbecker U, et al. Detection of relapse by sequential monitoring of chimerism in circulating CD34+ cells. *Ann Hematol.* 2002;81 Suppl 2:S27-8.
64. Lion T, Watzinger F, Preuner S, Kreyenberg H, Tilanus M, de Weger R, et al. The EuroChimerism concept for a standardized approach to chimerism analysis after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia.* 2012;26(8):1821-8.
65. Hoffmann JC, Stabla K, Burchert A, Volkmann T, Bornhäuser M, Thiede C, et al. Monitoring of acute myeloid leukemia patients after allogeneic stem cell transplantation employing semi-automated CD34+ donor cell chimerism analysis. *Ann Hematol.* 2014;93(2):279-85.
66. Unnikrishnan A, Meacham AM, Goldstein SS, Ta M, Leather HL, Cogle CR, et al. CD34+ chimerism analysis for minimal residual disease monitoring after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Leuk Res.* 2018;74:110-2.
67. Breuer S, Preuner S, Fritsch G, Daxberger H, Koenig M, Poetschger U, et al. Early recipient chimerism testing in the T- and NK-cell lineages for risk assessment of graft rejection in pediatric patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia.* 2012;26(3):509-19.
68. Pichler H, Fritsch G, König M, Daxberger H, Glogova E, Pötschger U, et al. Peripheral blood late mixed chimerism in leucocyte subpopulations following allogeneic stem cell transplantation for childhood malignancies: does it matter? *Br J Haematol.* 2016;173(6):905-17.
69. Broglie L, Helenowski I, Jennings LJ, Schafernak K, Duerst R, Schneiderman J, et al. Early mixed T-cell chimerism is predictive of pediatric AML or MDS relapse after hematopoietic stem cell transplant. *Pediatr Blood Cancer.* 2017;64(9).
70. Stumph J, Vnencak-Jones CL, Koyama T, Frangoul H. Comparison of peripheral blood and bone marrow samples for detection of post transplant mixed chimerism. *Bone Marrow Transplant.* 2008;41(6):589-90.
71. Willasch AM, Kreyenberg H, Shayegi N, Rettinger E, Meyer V, Zabel M, et al. Monitoring of hematopoietic chimerism after transplantation for pediatric myelodysplastic syndrome: real-time or conventional short tandem repeat PCR in peripheral blood or bone marrow? *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20(12):1918-25.

72. Bach C, Steffen M, Roesler W, Winkler J, Mackensen A, Stachel KD, et al. Systematic comparison of donor chimerism in peripheral blood and bone marrow after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood Cancer J.* 2017;7(6):e566.
73. Vives J, Casademont-Roca A, Martorell L, Nogués N. Beyond chimerism analysis: methods for tracking a new generation of cell-based medicines. *Bone Marrow Transplant.* 2020;55(7):1229-39.
74. Acquaviva C, Duval M, Mirebeau D, Bertin R, Cavé H. Quantitative analysis of chimerism after allogeneic stem cell transplantation by PCR amplification of microsatellite markers and capillary electrophoresis with fluorescence detection: the Paris-Robert Debré experience. *Leukemia.* 2003;17(1):241-6.
75. Kreyenberg H, Hölle W, Möhrle S, Niethammer D, Bader P. Quantitative analysis of chimerism after allogeneic stem cell transplantation by PCR amplification of microsatellite markers and capillary electrophoresis with fluorescence detection: the Tuebingen experience. *Leukemia.* 2003;17(1):237-40.
76. Frankfurt O, Zitzner JR, Tambur AR. Real-time qPCR for chimerism assessment in allogeneic hematopoietic stem cell transplants from unrelated adult and double umbilical cord blood. *Hum Immunol.* 2015;76(2-3):155-60.
77. Brown PA, Shah B, Advani A, Aoun P, Boyer MW, Burke PW, et al. Acute Lymphoblastic Leukemia, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2021;19(9):1079-109.
78. Pollyea DA, Bixby D, Perl A, Bhatt VR, Altman JK, Appelbaum FR, et al. NCCN Guidelines Insights: Acute Myeloid Leukemia, Version 2.2021. *J Natl Compr Canc Netw.* 2021;19(1):16-27.
79. Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood.* 2017;129(4):424-47.
80. Bader P, Kreyenberg H, Hoelle W, Dueckers G, Handgretinger R, Lang P, et al. Increasing mixed chimerism is an important prognostic factor for unfavorable outcome in children with acute lymphoblastic leukemia after allogeneic stem-cell transplantation: possible role for pre-emptive immunotherapy? *J Clin Oncol.* 2004;22(9):1696-705.

81. Greil C, Engelhardt M, Ihorst G, Duque-Afonso J, Shoumariyeh K, Bertz H, et al. Prognostic factors for survival after allogeneic transplantation in acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant*. 2021;56(4):841-52.
82. Appelbaum FR. Measurement of minimal residual disease before and after myeloablative hematopoietic cell transplantation for acute leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2013;26(3):279-84.
83. Bastos-Oreiro M, Perez-Corral A, Martínez-Laperche C, Bento L, Pascual C, Kwon M, et al. Prognostic impact of minimal residual disease analysis by flow cytometry in patients with acute myeloid leukemia before and after allogeneic hemopoietic stem cell transplantation. *Eur J Haematol*. 2014;93(3):239-46.
84. Shah MV, Jorgensen JL, Saliba RM, Wang SA, Alousi AM, Andersson BS, et al. Early Post-Transplant Minimal Residual Disease Assessment Improves Risk Stratification in Acute Myeloid Leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018;24(7):1514-20.
85. Klyuchnikov E, Badbaran A, Massoud R, Fritsche-Friedland U, Janson D, Ayuk F, et al. Post-Transplantation Multicolored Flow Cytometry-Minimal Residual Disease Status on Day 100 Predicts Outcomes for Patients With Refractory Acute Myeloid Leukemia. *Transplant Cell Ther*. 2022.
86. Lamba R, Abella E, Kukuruga D, Klein J, Savasan S, Abidi MH, et al. Mixed hematopoietic chimerism at day 90 following allogeneic myeloablative stem cell transplantation is a predictor of relapse and survival. *Leukemia*. 2004;18(10):1681-6.
87. Scheffold C, Kroeger M, Zuehlsdorf M, Tchinda J, Silling G, Bisping G, et al. Prediction of relapse of acute myeloid leukemia in allogeneic transplant recipients by marrow CD34+ donor cell chimerism analysis. *Leukemia*. 2004;18(12):2048-50.
88. Bernal T, Diez-Campelo M, Godoy V, Rojas S, Colado E, Alcoceba M, et al. Role of minimal residual disease and chimerism after reduced-intensity and myeloablative allo-transplantation in acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome. *Leuk Res*. 2014;38(5):551-6.
89. Qin XY, Li GX, Qin YZ, Wang Y, Wang FR, Liu DH, et al. Quantitative chimerism: an independent acute leukemia prognosis indicator following allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49(10):1269-77.

90. Bar M, Wood BL, Radich JP, Doney KC, Woolfrey AE, Delaney C, et al. Impact of minimal residual disease, detected by flow cytometry, on outcome of myeloablative hematopoietic cell transplantation for acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res Treatment*. 2014;2014:421723.
91. Terwey TH, Hemmati PG, Nagy M, Pfeifer H, Gökbuget N, Brüggemann M, et al. Comparison of chimerism and minimal residual disease monitoring for relapse prediction after allogeneic stem cell transplantation for adult acute lymphoblastic leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(10):1522-9.
92. Pincez T, Santiago R, Bittencourt H, Louis I, Bilodeau M, Rouette A, et al. Intensive monitoring of minimal residual disease and chimerism after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute leukemia in children. *Bone Marrow Transplant*. 2021.
93. Ladetto M, Böttcher S, Kröger N, Pulsipher MA, Bader P. Methods and role of minimal residual disease after stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2019;54(5):681-90.
94. Kröger N, Solano C, Wolschke C, Bandini G, Patriarca F, Pini M, et al. Antilymphocyte Globulin for Prevention of Chronic Graft-versus-Host Disease. *N Engl J Med*. 2016;374(1):43-53.
95. Walker I, Panzarella T, Couban S, Couture F, Devins G, Elemary M, et al. Pretreatment with anti-thymocyte globulin versus no anti-thymocyte globulin in patients with haematological malignancies undergoing haemopoietic cell transplantation from unrelated donors: a randomised, controlled, open-label, phase 3, multicentre trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(2):164-73.
96. Güldane Cengiz Seval EK, Sinem Civriz Bozdağ, Meltem Kurt Yüksel, Pervin Topçuoğlu, Klara Dalva, Önder Arslan, Muhit Özcan, Günhan Gürman, Meral Bektaş, Osman İlhan, Selami Koçak Toprak, . Akut Myeloid Lösemi Tanısı ile Akraba Dışı Vericiden Allojeneik Hematopoietik Kök Hücre Nakli Yapılan Hastalarda ATG Kullanımının Nakil Sonuçlarına Etkisi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*. 2021;74(3):337-42.
97. Shen Z, Gu X, Mao W, Yin L, Yang L, Zhang Z, et al. Influence of pre-transplant minimal residual disease on prognosis after Allo-SCT for patients with acute lymphoblastic leukemia: systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer*. 2018;18(1):755.

98. Raetz EA, Teachey DT. T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2016;2016(1):580-8.

