TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKLİ YAPILAN HASTALARDA AKUT GRAFT VERSUS HOST HASTALIĞI GELİŞİMİNİ BELİRLEMEDE ST2 VE REG3α DÜZEYLERİ ERKEN BİR BİYOMARKER OLABİLİR Mİ?

Ahmet Gökcan ÖZTÜRK

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Figen DOĞU

ANKARA
2021

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKLİ YAPILAN HASTALARDA AKUT GRAFT VERSUS HOST HASTALIĞI GELİŞİMİNİ BELİRLEMEDE ST2 VE REG3α DÜZEYLERİ ERKEN BİR BİYOMARKER OLABİLİR Mİ?

Ahmet Gökcan ÖZTÜRK

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Figen DOĞU

ANKARA
2021

Ankara Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanlığı'na,

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum "Hematopoetik Kök Hücre Nakli Yapılan Hastalarda Akut Graft Versus Host Hastalığı Gelişimini Belirlemede ST2 ve REG3a Düzeyleri Erken Bir Biyomarker Olabilir mi? " başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımca yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmayla ilgili tüm süreçler Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu, 23.06.2020 tarihinde **İ6-357-20** numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Dr. Ahmet Gökcan Öztürk
Tarih: 29.04.2021
İmza:

ÖZGÜNLÜK RAPORU

turnitin

Digital Receipt

This receipt acknowledges that Turnitin received your paper. Below you will find the receipt information regarding your submission.

The first page of your submissions is displayed below.

Submission author:	Ahmet Öztürk
Assignment title:	TEZ
Submission title:	TEZ
File name:	G_KCAN_TEZ_13.04.docx
File size:	3.11M
Page count:	108
Word count:	19,665
Character count:	129,901
Submission date:	13-Apr-2021 12:09PM (UTC+0300)
Submission ID:	1558003638



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKLİ YAPILAN HASTALARDA
AKUT GRAFT VERSUS HOST HASTALIĞI GELİŞİMİNİ BELİRLEMEDE ST2
VE REG3α DÜZEYLERİ ERKEN BİR BİYOMARKER OLABİLİR Mİ?

Ahmet Gökcan Öztürk

TEZ

ORIGINALITY REPORT

5%	4%	3%	1%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

KABUL ONAY SAYFASI

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Ahmet Gökcan Öztürk	**Sınav tarihi:** 29/04 / 2021
Anabilim/Bilim Dalı	: Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	
Tez Danışmanı	: Prof. Dr. Figen DOĞU	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER

Tezin Başlığı: Hematopoetik Kök Hücre Nakli Yapılan Hastalarda Akut Graft Versus Host Hastalığı Gelişimini Belirlemede ST2 ve Reg3α Düzeyleri Erken Bir Biyomarker Olabilir mi?

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

Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

Jüri Başkanı
Unvanı, Adı, Soyadı
Prof. Dr. Figen DOĞU
Allerji-İmmünoloji Bilim Dalı

Jüri Üyesi
Unvanı, Adı, Soyadı
Prof. Dr. Kamile Aydan İKİNCİOĞULLARI
Allerji-İmmünoloji Bilim Dalı

Jüri Üyesi
Unvanı, Adı, Soyadı
Doç. Dr. Caner AYTEKİN Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları

ÖNSÖZ

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları stajyerlik, intörnlük ve uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini paylaşan, desteklerini her zaman hissettiğim, başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Saadet Arsan olmak üzere tüm öğretim üyelerine,

Pediatri uzmanlığı ve tez yazım sürecinde çok büyük emek, sabır ve anlayış göstererek bu tezin her aşamasında desteğini hissettiğim, iyi bir hekimin ve iyi bir bilim insanının nasıl olması gerektiği konusunda örnek aldığım ve alacağım saygıdeğer tez hocam Prof. Dr. Figen Doğu'ya,

Bilimsel-akılcı yaklaşımı ve çalışmalarıyla Çocuk İmmunoloji ve Allerji Bilim Dalı'na olan hayranlığımı her zaman arttıran Çocuk İmmunoloji ve Allerji Bilim Dalı Başkanı saygıdeğer Prof. Dr. Aydan İkincioğulları'na,

Tez sürecinde hastaları birlikte takip ettiğimiz ve her soruma koşulsuz yanıt veren başta Doç. Dr. Şule Haskoloğlu olmak üzere; Uz. Dr. Sevgi Köstel Bal, Uz. Dr. Candan İslamoğlu, Uz. Dr. Kübra Baskın, Uz. Dr. Nazlı Deveci'ye,

Serum örneklerinin toplanmasında organizasyonu harika bir şekilde sağlayan Hemşire Birsel Küçükersan ve KİT ünitesi hemşirelerine,

Tezin en zor kısımlarından biri olan örneklerin saklanması ve çalışılması aşamalarının sorunsuz ve kolayca hallolmasını sağlayan Biyolog Deniz Bayrakoğlu ve Çocuk İmmunoloji Laboratuarı çalışanlarına,

Serum örneklerinin toplanmasında her ay değişmelerine rağmen bana çok yardımcı olan asistan arkadaşlarıma,

Asistanlık hayatımı güzelleştiren, her zor anımda yanımda olan, dosttan çok ikinci ailem olan ve hayatımda hep özel bir yere sahip olacak Dr. Selen Şimşek, Dr. Özgün Özgenç, Dr. Setenay Akyüzlüer'e,

Bugünlere gelmemi sağlayan, koşulsuz destekçilerim ve hayatımın en özel insanları annem, babam ve kardeşime

Sevgi, saygı ve minnetle…

Dr. Ahmet Gökcan Öztürk
Nisan 2021

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

Etik Beyan ii
Özgünlük Raporu iii
Kabul Onay Sayfası iv
Önsöz v
İçindekiler vi
Simgeler ve Kısaltmalar viii
Şekiller Dizini x
Tablolar Dizini xi
1. ÖZET 1
2. ABSTRACT 3
3. GİRİŞ ve AMAÇ 5
4. GENEL BİLGİLER 6
4.1. Hematopoetik Kök Hücre Nakli 6
4.1.1. Tanım ve Tarihçe 6
4.1.2. Verici Tipleri ve Hematopoetik Kök Hücre Nakli Endikasyonları 6
4.1.3. Kök Hücre Kaynakları 9
4.1.4. Hazırlama Rejimleri 10
4.1.5. Akut Graft Versus Host Hastalığı Profilaksisi 11
4.1.6. Nakil Süreci ve Engrafman 12
4.1.7. Hematopoetik Kök Hücre Nakline Bağlı Komplikasyonlar 13
4.1.8. Akut Graft Versus Host Hastalığı (a GVHH) 15
4.1.8.1. Tanım 15
4.1.8.2. Etyoloji ve Risk Faktörleri 16
4.1.8.3. Akut Graft Versus Host Hastalığı'nın Genetik Temeli 16
4.1.8.4. Akut Graft Versus Host Hastalığı'nın Patogenezi 17
4.1.8.5. Akut Graft Versus Host Hastalığında Klinik Bulgular 20
4.1.8.6. Akut Graft Versus Host Hastalığı'nda Evreleme 22
4.1.8.7. Akut Graft Versus Host Hastalığında Tedavi 23
4.1.8.9. ST2 ve REG3 α'nın aGVHH Patogenezindeki Rolleri 27
5. GEREÇ ve YÖNTEM 29
5.1. Çalışmanın Dizaynı 29
5.2. Çalışmaya Dahil Olma ve Olmama Kriterleri 29

5.3. Çalışmanın Yöntemi 30
5.4. Örneklerin Toplanması ve Saklanması 30
5.5 Örneklerin çalışılması 30
5.5.1. ST2 Düzeyleri Ölçümü İçin ELISA Yöntemi 30
5.5.2. Reg3α Düzeyleri Ölçümü İçin ELISA Yöntemi 32
5.7. İstatistiksel Analiz 33
6. BULGULAR 35
6.1. Çalışma Grubunun Genel Özellikleri 35
6.2. Akut GVHH Gelişen, Gelişmeyen Olgulara Ait Genel Özelliklerin Karşılaştırılması 40
6.3. HKHN Yapılan Olguların ve Sağlıklı Kontrol Grubunun ST2 ve Reg3α Düzeyleri 44
7. TARTIŞMA 55
8. SONUÇ ve ÖNERİLER 62
9. KAYNAKLAR 66

SİMGELER ve KISALTMALAR

AKİY : Ağır kombine immün yetmezlik
ALL : Akut Lenfoblastik lösemi
AML : Akut myeloid lösemi
ALP : Alkalan fosfataz
ALT : Alanin aminotransferaz
AST : Aspartat aminotransferaz
ATG : Antitimosit globulin
BO : Bronşiolitis obliterans
CCL5 : C-C motif chemokine ligand 5
CD : Cluster of differantation
CNV : Copy number variations
DAMP : Damage associated mollecular pattern
DOCK8 : Dedicator of cytokinesis 8
EBMT : The European Blood and Bone Marrow Transplantation
G-CSF : Granülosit koloni uyarıcı faktör
GIS : Gastrointestinal sistem
GM-CSF : Granulosit makrofaj koloni uyarıcı faktör
HKHN : Hematopoetik kök hücre nakli
HLA : Human leukocyte antigen
HLH : Hemofagositik lenfohistiyositozis
IF : Interferon
Ig : İmmünglobulin
IL-2 : Interlökin-2
IL10RA : IL10 resetör alfa subunit
IVIG : İntravenöz immünglobulin
KGH : Kronik granülamatöz hastalık
mHAg : Minor histocamtibility antigens
MHC : Major doku uygunluk kompleksi
MIC : Minimal intensity conditioning
MMRD : Mismatch related donor
MMUD : Mismatch unrelated donor
MRD : Match related donor
MSD : Match sibling donor

MUD **:** Match unrelated donor

NFAT **:** Nuclear factor of activated T cell

NLR **:** Nod like receptor

PAMP **:** pathogen associated moleküler

RAGE **:** Receptor for advanced glycation endproducts

REG3-α **:** Regenerating islet-derived protein 3-α

RIC **:** Reduced intensity conditioning

RIG1 **:** Retinoic acid inducible gene 1 like receptors

SNP **:** Single nucleotide polymorphisms

SOS **:** Sinuzoidal obstruksiyon sendromu

ST-2 **:** Supressor of tumorigenicity-2

TBI : Total vücut ışınlaması

TGF **:** Transforming growth factor

TIM3 **:** T cell immunglobulin and mucin domain containing protein 3

TLR **:** Toll-like receptors

TNF **:** Tumor necrosis factor

TNFR1 **:** Tumor necrosis factor receptor 1

VOD **:** Venookuzif hastalık

WAS **:** Wiskott Aldirch Sendromu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 4.1: Hematopoetik kök hücre nakli süreci 12

Şekil 4.2: Akut graft versus host hastalığı patogenezinde faz 1 aşaması 18

Şekil 4.3: Akut graft versus host hastalığı patogenezi 19

Şekil 4.4: Akut GVHH cilt tutulumu (Morfoloji ve patoloji) (Ankara Tıp Çocuk İmmunoloji PİY arşivinden) 21

Şekil 4.5: a) Akut GVHH patogenezinde IL-33/ ST2 etkileşimi, b) ST2 ve Reg3α 27

Şekil 5.1. Hasta Takip Formu 34

Şekil 6.1: Nakil öncesi ST2 düzeylerinin GVHH gelişen, GVHH gelişmeyen ve sağlıklı kontrol grupları arasında karşılaştırılması 46

Şekil 6.2: ST2 +7. gün düzeylerinin her 3 grup arasında karşılaştırılması) 46

Şekil 6.3: HKHN yapılan 27 hastanın nakil öncesi ölçülen ST2 düzeylerinin yaşa göre değişim grafiği 51

Şekil 6.4: Sağlıklı kontrol grubunda ST2 düzeylerinin yaşa göre değişim grafiği 52

Şekil 6.5: GVHH gelişen ve gelişmeyen hastalardan alınan örneklerdeki ST2 düzeyleri 52

Şekil 6.6: GVHH gelişen ve gelişmeyen hastalardan alınan örneklerdeki Reg3α düzeyleri 53

Şekil 6.7: Akut GVHH gelişen 13 hastanın ST2 düzeyleri 53

Şekil 6.8: Akut GVHH gelişen 13 hastanın Reg3α düzeyleri 54

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 4.1: Hematopetik kök hücre nakli endikasyonları 7

Tablo 4.2: Akut graft versus host hastalığının 2014 NIH konsensusuna göre sınıflanması 20

Tablo 4.3: Akut graft versus hastalığı pediatrik evreleme sistemi 23

Tablo 4.4: Akut GVHH tedavisinde kullanılan ikinci basamak tedavi ajanları 25

Tablo 6.1: Çalışma grubundaki 27 hastanın genel özellikleri 35

Tablo 6.2: Sağlıklı kontrol grubunun özellikleri 36

Tablo 6.3: Hematopoetik kök hücre nakline ait özellikler 37

Tablo 6.4: Hematopoetik kök hücre nakli yapılan hastalarda komplikasyonlar ve prognoz 39

Tablo 6.5: Akut graft versus host hastalığı gelişen hastaların özellikleri 40

Tablo 6.6: Akut GVHH gelişen ve gelişmeyen grupların genel özellikleri 41

Tablo 6.7: HKHN yapılan olguların verici özellikleri 41

Tablo 6.8: HKHN yapılan olgularda diğer risk faktörleri 42

Tablo 6.9: Akut GVHH gelişen ve gelişmeyen gruplarda akut GVHH dışında diğer komplikasyonlar, myeloid/ trombosit engrafman süreleri, prognoz ve HKHN sonrası izlem süreleri 43

Tablo 6.10: HKHN yapılan olguların ve sağlıklı kontrol grubunun ST2 ve Reg3α düzeyleri 44

Tablo 6.11: GVHH gelişen ve GVHH gelişmeyen hastaların nakil öncesi/ 7. gün ve sağlıklı Kontrol Grubunun ST2 ve Reg3α düzeyleri 45

Tablo: 6.12: Akut GVHH gelişen hastalardan GVHH geliştiği gün alınan serum örneklerindeki ST2 ve Reg3α düzeyleri/ Sağlıklı kontrol grubunun ST2 ve Reg3α düzeyleri 47

Tablo 6.13: GVHH gelişen, GVHH gelişmeyen ve sağlıklı kontrol grubundan alınan örneklerdeki ST2 düzeyleri 48

Tablo 6.14: Nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeylerinin HKHN yapılan 27 hastada tanılara göre değerleri 48

Tablo 6.15: Nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeylerinin HKHN yapılan 27 hastada hastalık alt gruplarına ait değerleri 49

Tablo 6.16: Nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeylerinin GVHH Gelişen 13 hastada primer immun yetmezlik ve hematolojik hastalıklara ait değerieri 49
Tablo 6.17: Nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeylerinin GVHH gelişen 13 hastada hastalık alt gruplarına ait değerleri 50
Tablo 6.18: HKHN yapılan 27 hastanın hazırlama rejimlerine göre nakil öncesi ve +7. Gün ölçülen ST2 düzeyleri 50
Tablo 6.19: GVHH gelişen 13 hastanın hazırlama rejimlerine göre nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeyleri 51
Tablo 6.20: Steroid direnci gelişen hastalarda ST2 ve Reg3α düzeylerine ait ROC analizi sonuçları 54

1. ÖZET

Amaç: Hematopoetik kök hücre nakli (HKHN), defektif veya fonksiyon görmeyen hematopoetik hücrelerin; sağlıklı, normal şekilde çoğalabilen ve immün yeteneği bulunan hücrelerle yeniden yapılandırılmasını sağlayan bir tedavi yaklaşımıdır. Hematopoetik kök hücre naklinin birçok komplikasyonu bulunmaktadır. Bunlardan en önemlisi hiç şüphesiz transplant ilişkili mortaliteyi arttıran akut graft versus host hastalığıdır. Bu çalışmanın amacı, pediatrik yaş grubunda allojenik hematopoetik kök hücre nakli yapılan hastalarda, erken dönemde ölçülen serum ST-2 ve Reg3α düzeylerinin kök hücre nakli sonrasında gelişebilecek akut GVHH'yi ve tedavi yanıtını öngörmede birer biyomarkır olup olamayacaklarını belirlemektir.

Gereç ve Yöntem: Belirlenen süre zarfında hematopoetik kök hücre nakli yapılan ve çalışma popülasyonunu oluşturan 27 hasta, nakil ünitesine alınışlarından itibaren prospektif olarak izlendi. Nakil sonrası akut GVHH gelişen hastalar ve gelişmeyen hastalar olarak ikiye ayrıldı. Benzer yaş grubundan başka nedenlerle kan alınması gereken kronik hastalık, enfeksiyon ve ilaç kullanımı öyküsü olmayan 19 sağlıklı gönüllü kontrol grubunu oluşturdu. Allojenik HKHN yapılması planlanan hastalardan hazırlama rejimi başlanmadan, HKHN yapıldıktan sonra 7. gün ve aGVHH gelişirse aynı gün alınan serum örnekleri çalışma gününe kadar -20 C^{o}'de muhafaza edildi. ST2 ve Reg3α düzeyleri ELISA yöntemiyle çalışıldı.

Bulgular: Nakil öncesi, nakil sonrası 7. gün ve akut GVHH gelişen hastalarda akut GVHH geliştiği gün alınan serum örneklerindeki ST2 düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna göre istatiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. ($p<0.05$) Aynı günlerde alınan örneklerdeki ST2 düzeyleri açısından GVHH gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. ($p>0.05$) Akut cilt ve akut GIS GVHH'si geliştiği günlerde olgulardan alınan örneklerdeki ST2 düzeyleri arasında bu iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. ($p>0.05$) Nakil öncesi, nakil sonrası 7. gün ve akut akut GVHH gelişen hastalarda akut GVHH geliştiği gün alınan serum örneklerindeki Reg3α düzeyleri açısından hiçbir grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı. ($p>0.05$) Steroid direnci nedeniyle ikinci basamak tedavi gereksinimi olan akut GVHH gelişen hastalarda yapılan ROC analizinde ST2 ve Reg3α düzeyleri için cut off değerleri hesaplandı. Hiçbir nicel değişken için p değeri anlamlı saptanmadı. ($p>0.05$) Kaybedilen hasta sayısının ve çalışma populasyonunun az olması nedeniyle ST2 ve Reg3α düzeylerinin transplant ilişkili mortaliteyle ilişkisi değerlendirilemedi.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları ST2 ve Reg3α düzeylerinin pediatrik yaş grubunda, akut graft versus host hastalığını, steroid direncini ve transplant ilişkili mortaliteyi öngörmede prognostik ve prediktif bir biyomarkır olmadığını düşündürmektedir.

AnahtarKelimeler: akut graft versus host hastalığı, hematopoetik kök hücre nakli, primer immün yetmezlik, malignite, biyomarkır

2. ABSTRACT

Aim: Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is a treatment approach that allows defective or dysfunctional hematopoietic cells to be reconstructed with cells that are healthy, able to reproduce normally, and have immune abilities. Hematopoietic stem cell transplantation has many complications. The most important one is undoubtedly acute graft versus host disease (GVHD), which increases transplant-related mortality. This study aims to determine whether serum ST-2 and Reg3α levels measured in the early period can be biomarkers in predicting acute GVHD and treatment response that may develop after stem cell transplantation in patients with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in the pediatric age group.

Materials and Methods: During the specified period, 27 patients who underwent hematopoietic stem cell transplantation -forming the population of this study- were prospectively monitored from the time they were admitted to the transplant unit. After transplantation, patients were divided into two groups: those who developed acute GVHD and those who didn't develop GVHD. A control group was formed by including 19 healthy volunteers of similar age groups; from whom blood was taken due to other reasons, and who have no history of chronic diseases, infections, and drug use. 5 cc venous blood samples were taken from patients who were planned to undergo allogenic HSCT. Samples were drawn before the preparation regimen of HSCT, 7 days after HSCT, and on the day of aGVHD development (in case it developed). The serum samples obtained were separated and kept at -20 C^{o} until the day spesified for measurements. ST2 and Reg3α levels were measured by the ELISA method on the day specified for measurements.

Results: ST2 levels measured in serum samples taken before HSCT, on the 7th day after transplantation and the day acute GVHD devoleped in patients who developed GVHD were found to be significantly higher in HSCT patients compared to the healthy control group. ($p<0.05$). No significant difference was found between the groups with and without GVHD in terms of ST2 levels in the samples taken on the same days ($p>0.05$) On the days when acute skin and acute GIS GVHD developed, there was no significant difference between these two groups in ST2 levels in the samples taken from the cases ($p>0.05$). There was no statistically significant difference between any of the groups in terms of Reg3α pre-transplant, post-transplant 7th-day and the day acute GVHD developed in patients who developed GVHD levels ($p>0.05$). Cut-off values were calculated for ST2 and Reg3α levels in ROC analysis of patients with acute GVHD who needed second-line treatment due to steroid resistance. No p-value was found to be significant for any quantitative variable ($p>0.05$). The relationship between ST2

and Reg3α levels and transplant related mortality could not be evaluated due to small number of patients lost and study population.

Conclusion: The results of our study suggest that ST2 and Reg3α levels are not prognostic and predictive biomarkers in predicting acute graft versus host disease, steroid resistance, and transplant-related mortality in the pediatric age group.

Keywords: acute graft versushost disease, hematopoietic stem cell transplant, primary immuno deficiency, malignancy, biomarker

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Hematopoetik kök hücre nakli (HKHN), defektif veya fonksiyon görmeyen hematopoetik hücrelerin, sağlıklı, normal şekilde çoğalabilen ve immün yeteneği bulunan hücrelerle yeniden yapılandırılmasını sağlayan bir tedavi yaklaşımıdır (1).

Kök hücre nakli otolog ve allojenik olmak üzere iki şekilde gerçekleştirilmektedir. Otolog kök hücre nakli; kişinin kendi kök hücrelerinin toplanarak yüksek doz kemoterapi sonrası tekrar kendisine aktarılmasıdır (2). Allojenik kök hücre naklinde ise; hazırlama rejimi verilerek veya bazı primer immün yetmezliklerde hazırlama rejimi verilmeksizin, sağlıklı donörden alınan hücreler hastaya aktarılır. Kök hücre kaynağı olarak da kemik iliği, periferik kan ve kord kanı kullanılmaktadır (3) (4) (5).

Hematopetik kök hücre nakli, malign ve malign olmayan olarak sınıflandırılan birçok hastalıkta kullanılmaktadır; ama her tedavi yönteminin olduğu gibi hematopoetik kök hücre naklinin de birçok komplikasyonu bulunmaktadır. Bunlardan en önemlisi hiç şüphesiz transplant ilişkili mortaliteyi arttıran akut graft versus host hastalığıdır (akut GVHH). Tam uyumlu nakillerin %35-45'i, yarı uyumlu nakillerin %60-80'i etkilenmektedir. Mortalite oranları %20 olarak bildirilmekle birlikte klinik durum ve risk faktörlerinin birleşmesiyle bu oran %80-90'a kadar çıkabilmektedir. Tedavide birçok ajan kullanılmasına rağmen; hala akut GVHH hematopoetik kök hücre naklinin en çok korkulan komplikasyonlarından birisidir (6).

Bu kadar agresif giden ve HKHN sonrası transplant ilişkili mortalitenin en önemli nedenlerinden birisi olan bu durumun önceden öngörülebilmesi, tedavi yanıtının değerlendirilebilmesi için dünya çapında prognostik bir biyomarkır bulma çalışmaları devam etmektedir. Yetişkinlerde çokça çalışma yapılmış olmasına rağmen, pediatrik HKHN sonrası gelişen akut GVHH için henüz prognostik bir biyomarkır bulunamamıştır. Yetişkin çalışmalarında birçok biyomarkır araştırılmasına rağmen; şu ana kadar yapılan çalışmalarda en çok kullanılan iki biyomarkır ST2 (supressor of tumorigenicity-2) ve Reg3α (Regenerating islet-derived protein 3α)'dır. Yapılan çalışmalarda bu iki biyomarkerın; akut GVHH klinik ve patolojik bulguları ortaya çıkmadan kanda yükseldiği, 6 ay-1 yıllık transplant ilişkili mortaliteyi yansıttığı ve sistemik steroid tedavisinin 28. gününde tedavi yanıtını belirlemede önemli olduğu belirtilmiştir (7).

Bu çalışmanın amacı, pediatrik yaş grubunda allojenik hematopoetik kök hücre nakli yapılan hastalarda, erken dönemde ölçülen serum ST-2 ve Reg3α düzeylerinin kök hücre nakli sonrasında gelişebilecek akut GVHH'yi ve tedavi yanıtını öngörmede birer biyomarkır olup olamayacaklarını belirlemektir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Hematopoetik Kök Hücre Nakli

4.1.1. Tanım ve Tarihçe

Hematopoetik kök hücre nakli (HKHN), defektif veya fonksiyon görmeyen hematopoetik hücrelerin, metabolik veya enzimatik kapasitenin sağlıklı hücrelerle yeniden yapılandırılmasını sağlayan bir tedavi yaklaşımıdır (1).

Kök hücre nakli ile ilgili ilk çalışmalar 1940'lı yıllara dayanır. İlk kayıtlı insan kemik iliği nakli deneyimi 1939 yılında altına bağlı kemik iliği aplazisi olan hastaya, aynı kan grubundan olan erkek kardeşinden yapılmıştır. Transplantasyon başarılı olmamış ve hasta 5 gün sonra ölmüştür (8). İlk denemeler allojenik kök hücre transplantasyonu ile gerçekleştirilmiştir. Allojenik transplantasyondaki en önemli sorun; hem donorün iliğinin alıcı tarafından reddi, hem de alıcının dokularına karşı donörün lenfositlerin verdiği reaksiyon sonrası gelişen graft versus host hastalığıdır. 1967'de HLA (human leukocyte antigen) sisteminin bulunmasıyla, başarılı kök hücre nakillerinin önü açılmıştır (9). İlk başarılı allojenik kök hücre nakilleri 1968 yılında ağır kombine immün yetmezliği olan bir hastaya ve Wiskott Aldrich Sendromu tanılı 2 yaşındaki bir erkek çocuğuna yapılmıştır. GVHH gelişimini engellemek adına siklosporin ve metotreksat üzerine çalışmalar yapılmasının ardından, 1979 yılında Hansen ve arkadaşları tarafından akraba dışı vericiden ilk kemik iliği nakli gerçekleştirilmiştir (10)(11). 1974 yılında, insan kord kanında dolaşan hücrelerin in vitro olarak granulosit kolonileri oluşturmasının bulunmasıyla ilk başarılı kordon kanı kök hücre nakli, 1988 yılında Gluckman ve arkadaşları tarafından Paris'te Fanconi aplastik anemili bir hastaya yapılmıştır (12). 2020 yılına geldiğimizde ise hematopoetik kök hücre nakli ile araştırmalar tüm hızıyla devam etmekte, yılda 50000'den fazla nakil yapılmaktadır (13).

4.1.2. Verici Tipleri ve Hematopoetik Kök Hücre Nakli Endikasyonları

Kök hücre nakli otolog ve allojenik olmak üzere iki şekilde gerçekleştirilmektedir. Otolog kök hücre nakli; kişinin kendi kök hücrelerinin toplanarak, yüksek doz kemoterapi sonrası tekrar kendisine aktarılmasıdır (2).

Allojenik veya otolog hematopoetik kök hücreler malign ve malign olmayan hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Allojenik ve otolog kök hücre nakil endikasyonları tablo 4.1'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir. Otolog transplantasyon daha çok yüksek doz kemoterapi gereken (radyoterapi almış ya da almamış) hematolojik malignitelerde, relaps lenfomada ve bazı solid tümörlerin tedavisinde kullanılır. Allojenik transplantasyon ise hematolojik malign hastalıklar,

hemoglobinapatiler, primer immün yetmezlikler, metabolik hastalıklar ve kemik iliği yetmezliklerinde daha çok kullanılır. 20 yaş altında yapılan allojenik HKHN'lerin endikasyonlarının %43'ü akut lösemilerken, %35'ini malign olmayan hastalıklar oluşturmaktadır (3)(14)(15).

Tablo 4.1: Hematopetik kök hücre nakli endikasyonları (14) (89)

Primer İmmün Yetmezlikler	Malign Hematolojik Hastalıklar	Malign Olmayan Hematolojik Hastalıklar	Diğer
1-Kombine İmmün Yetmezlikler • Ağır Kombine İmmün Yetmezlik • ADA/PNP eksiklikleri • MHC Class II eksikliği • ZAP-70 eksikliği • Omenn sendromu • ORAI-STIM1 eksiklikleri • CD40 ve CD40L eksiklikleri • LIG4-Cernunnos eksiklikleri • CD3εγδ eksikliği • DOCK8 eksikliği • LRBA eksikliği • STK-4 eksikliği • CTLA-4 eksikliği • DOCK-2 eksikliği **2-İyi tanımlanmış immün yetmezlikler** • WAS • Nijmegen kırılma sendromu • ICF • Kıkırdak saç hipoplazisi • Diskeratozis konjenita • Hoyeraal Hreidarsson sendromu **3-Fagositer Sistem Defektleri** • Kronik Granülamatöz Hastalık • Ağır konjenital nötropeniler • Lökosit adezyon defektleri • Schwachman Diamond Sendromu • IFN-Y reseptör eksikliği • GATA-2 eksikliği 4-**İmmün disregülasyonla giden hastalıklar** • Otoimmün lenfoproliferatif sendrom • Chediak Higashi sendromu • Hermansky Pudlak tip2 • Griscelli tip2 • Familyal hemofagositik lenfohistiyositozis (FHL) • ITK eksikliği • CD27 eksikliği • CD70 eksikliği • IPEX sendromu • CD25 eksikliği • IL-10-IL10R eksikliği **5.Doğal İmmünite Defektleri** • Nemo gen defekti • NF-Kb inh alfa eksikliği	**1-Akut lenfoblastik lösemi** Relaps riski çok yüksek olan ilk komplet remisyon sonrası, T-hücre immünofenotipi ve steroid tedavisine yanıtsızlık, İndüksyion fazının sonunda remisyon olmaması, Hipodiploidi (<43 kromozom), Konsolidasyon tedavisinin sonunda minimal rezidüel hastalık olması **2-Yüksek risk infant ALL** 2/3 komplet remisyon **3-Akut myeloid lösemide** 1. komplet remisyon **4- Kronik myeloid lösemide** Philadelphia kromozomunun pozitif olması	**1-Ciddi kazanılmış aplastik anemi** **2-Fankoni Anemisi** **3-Paroksismal nokturnal hemoglobinüri** **4-Konjenital diskeratozis** **5-Diamond-Blackfan Anemisi** **6-Talasemi majör** **7-Orak Hücreli Anemi** **8-Myelodisplastik sendrom** **9-Bazı seçilmiş trombosit fonskiyon bozuklukları** • Glanzman trombastenisi • Konjenital amegakaryositik trombositopeni **10- Hayatı tehdit eden dirençli sitopeniler**	**1- Hodgkin veya NonHodgkin Lenfoma** **2- Bazı solid tümörler** • Metastatik nöroblastom • Tedaviye dirençli rabdomyosarkom • Çok yüksek risk Ewing sarkomu 3-**Hurler hastalığı gibi mukopolisakkaridozlar** **4-Krabbe/ Adrenoloködistrofi gibi bazı lipozomal/ peroksizomal hastalıklar** **5-Infantil malign osteopetrozis**

Allojenik nakillerin vericileri HLA uyumuna göre iki alt başlık altında incelenebilir.

HLA Uyumlu

- Tam uyumlu kardeş verici -MSD (Match sibling donor)
- Tam uyumlu akraba verici -MRD (Match related donor)
- Tam uyumlu akraba dışı verici-MUD (Match unrelated donor)

HLA Uyumsuz

- Doku uyumu tam olmayan akraba verici-MMRD (Mismatch related donor)
- Doku uyumu tam olmayan akraba dışı verici-MMUD (Mismatch unrelated donor) (2)(3).

Majör histokompatibilite antijenlerinin yanısıra polimorfik HLA genlerinin de yakın uyum gösterdiği HLA-identik kardeşler (MSD) tercih edilen verici tipidir. Bir naklin başarısı alıcı ve verici arasındaki HLA (İnsan lökosit antijenleri) uyumuna bağlıdır. HLA-A, HLA-B ve HLA-C, majör histokompatabilite class 1 (MHC1) molekülü olup antijenleri CD8+ T hücrelerine sunarlar. HLA-C lokusunun graft rejeksiyonu ve graft versus host hastalığı ile doğrudan bağlantılı olduğuna dair veriler mevcuttur. HLA-DR, HLA-DQ ve HLA-DP major histokompatabilite class 2 (MHC2) molekülleri olup, antijenleri CD4+ T hücrelerine sunarlar. Sınıf 1 molekülleri tüm çekirdekli hücrelerde, sınıf 2 molekülleri temel olarak dendritik hücre gibi profesyonel antijen sunucu hücreler, makrofaj ve B lenfositlerin yüzeyinde sergilenir. (16) Uluslararası BFM Çalışma Grubu verilerine göre HLA identik verici; alıcı ve verici arasında akraba ilişkilerine bakılmaksızın, doku grubu tam olarak eşleşen (10/10) veya tek bir alellik veya antijenik eşitsizliğe (9/10) sahip vericiler olarak tanımlanmaktadır. Alıcı ve vericinin, iki (8/10) veya daha fazla alelik veya antijenik eşitsizliğe sahip olması durumunda ise, HLA mismatch- haploidentik donör olarak tanımlanır. (17) HLA alelleri, insandaki tek polimorfik genler değildir. Tek gen polimorfizmleri (SNP) ve kopya sayı varyasyonları (CNP) insan genomunun %0.5'lik kısmını etkilemektedir. Çoğu nonfonksiyonel olsa da bazen bu non HLA alelleri transplantasyon biyolojisinde önemli rol oynamaktadır (18).

Verici seçimi çeşitli faktörlere bağlıdır.

1- Transplantasyonun aciliyeti,

2- Hasta/ hastalık/ transplant ilişkili faktörler

3- Nakil yapacak merkezin deneyimi

4- HLA uyumu: 10/10 HLA uyumu 9/10'dan daha iyidir.

5- Alıcı ve vericinin CMV durumu,

6- Vericinin yaşı: Genç donörler her zaman tercih edilir.

7- Vericinin cinsiyeti: Alıcı verici arasında cinsiyet uyumu daha iyidir.

8- ABO majör uyumu

9- ABO minör uyumu

10- Kök hücre kaynağı: Kemik iliğinden elde edilen kök hücreler daha iyidir (19).

MSD vericisi bulunmayan hastalara akraba dışı tam uyumlu (MUD) vericilerden nakil yapılabilir. HLA polimorfizmi ve tiplendirilmesindeki zorluklar nedeniyle MUD nakillerde rejeksiyon ve akut/ kronik graft versus host hastalığı oranları artmış görünmektedir. Bu yüzden talasemi, primer immün yetmezlikler gibi malign olmayan hastalıklarda MUD nakil yapılması adına ortak bir görüş birliği yoktur. Yüksek çözünürlüklü HLA tiplendirme yöntemlerinin kullanılmaya başlanmasıyla birlikte MUD nakillerde rejeksiyon ve GVHH gibi immün komplikasyonların oranı azalmıştır. MSD ya da MUD nakil şansına sahip olamayan ve acil nakil olması gereken hastalar için ise haploidentik nakil gündeme gelmektedir. Haploidentik vericiler, doku uyumu tam olmayan akraba verici - mismatch related donor (MMRD) ve doku uyumu tam olmayan akraba dışı verici- mismatch unrelated donor (MMUD) olmak üzere ikiye ayrılır. Haploidantik nakillerin avantajı her hasta için aile içinde en az bir donörün bulunmasıdır. Haploidantik vericilerden yapılan nakillerde T hücre deplesyonu yapılarak akut ve kronik GVHH önlenebilir. Bu uygulama ilk kez ağır kombine immün yetmezlik (AKİY) tanısı almış bir çocuğa yapılmıştır.(9) Lösemi hastalarında haploidentik nakil yapılacağı zaman miyeloablatif hazırlama rejimleri HLA bariyerini geçmek ve akut/ kronik GVHH'yi engellemek için kullanılmaktadır (20).

Otolog kök hücre nakillerinde ise hastanın kendi kemik iliği hücreleri kullanılmaktadır ve transplant ilişkili komplikasyonlar daha az görülmektedir. Otolog kök hücre nakli akut myeloid lösemide komplet remisyon sonrası relaps olan hastalarda denenmeye başlanmış olup günümüzde relaps lenfomalarda ve seçili solid tümörlerde kullanılmaktadır (4)(5).

4.1.3. Kök Hücre Kaynakları

Hematopoetik kök hücre naklinde kök hücre kaynağı olarak kemik iliği, periferik kan ve kord kanı kullanılır. Alıcının hastalığına, alıcı verici arasında kan grubu uygunsuzluğuna ve gerekli olan kök hücre miktarına göre kök hücre kaynağı belirlenir.

Kemik İliği: Kök hücre kaynağı olarak kemik iliğinden kök hücre toplanması işlemi posterior iliak krestten genel anestezi altında yapılır (2). Avantajlarına bakıldığında, yüksek engrafman oranları ve düşük kronik GVHH gelişimi ön plana çıkmaktadır. Dezavantajları ise kök hücre toplama işlemi için genel anesteziye ihtiyaç olması, işlem sonrası ağrı olması, yüksek volüm gereken toplama işlemi sonrası özellikle vücut ağırlığı düşük olan vericilerin transfüzyon gereksinimi olması, daha yavaş nötrofil ve platelet engrafmanına sahip olmasıdır (3)(4).

Periferik Kan: Periferik kandan elde edilen kök hücrelerle yapılan HKHN'lerde kök hücre toplanmadan önce vericiye 3-5 gün G-CSF (granülosit koloni stimule edici faktör) uygulaması yapılmaktadır. Aferez yöntemiyle perifere çıkan kök hücreler toplanmaktadır. Avantajları; yüksek engrafman oranları, olası düşük relaps oranları, azalmış enfeksiyon riski ve hastanede daha kısa süre yatma gereksinimi olarak sıralanabilir. Dezavantajlarına bakıldığında ise G-CSF kullanımı donörde kemik ve baş ağrısına, bulantı ve yorgunluğa neden olabilir. (5)

Kord Kanı: Kord kanı, kök hücre kaynağı olarak 30 yıl önce kullanılmaya başlanmış olup günümüze kadar giderek kullanımı artmıştır. Kord kanının en önemli avantajları; kolay toplanabilmesi ve erişilebilmesi, viral kontaminasyon riskinin az olması, verici hazırlığının olmaması, 1-2 HLA uygunsuzluğuna rağmen yapılabilmesi ve düşük GVHH oranıdır. En önemli kısıtlayıcı faktör ise toplanan hücre sayısıdır (14).

4.1.4. Hazırlama Rejimleri

Hazırlama rejimi (bazen radyoterapi ile birliktedir) hastanın hematopoetik sistemini yok edip, sağlıklı hücrelere yer açmak ve immün sistemini baskılamak üzere verilir. Özellikle T hücreleri baskılayan bu rejimler, greft rejeksiyonu engellemek adına kullanılır (21).

Bazı hazırlama rejimlerinin komponentleri doğası gereği daha miyeloablatiftir. (Melfelan, busulfan, fludarabin, siklofosfamid gibi). Hazırlama rejimleri total vücut ışınlamasıyla birlikte olabilir ya da sadece kemoterapiyi içerebilir. Hazırlama rejimlerinin içerikleri, dozları, verilme günleri alıcının hastalığına, vericinin tipine, alıcının yaşına ve altta yatan komorbiditelerine göre değişmektedir. 2 yaşın altındaki çocuklarda, geç yan etkileri nedeniyle, tüm vücut ışınlamasının yer aldığı hazırlama rejimlerinden kaçınılmalıdır (22). Miyeloablatif hazırlama rejimlerinin yerini, özellikle son 20 yıldır yan etki ve transplant ilişkili mortaliteyi azaltmak adına yoğunluğu azaltılmış hazırlama rejimleri almaya başlamıştır. (Reduced intencity conditioning- RIC, Minimal intensity conditioning-MIC) (23).

Yoğunluğu azaltılmış hazırlama rejimleri (RIC) komorbiditeleri bulunan ve miyeloablasyonun yan etkileri nedeniyle HKHN başarısızlığı olabilecek daha yaşlı alıcılar,

pediatrik yaş grubunda malign olmayan ve miks kimerizmin yeterli olduğu hastalıklar için kullanılmaya başlanmıştır (24).

4.1.5. Akut Graft Versus Host Hastalığı Profilaksisi

Hematopoetik kök hücre naklinin en önemli komplikasyonlarından biri akut graft versus host hastalığıdır. Akut GVHH, hematopoetik kök hücre nakli sonrası görülen en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden birisidir. Bu yüzden HKHN yapılırken en önemli aşamalardan biri akut GVHH profilaksisi ve eğer bu komplikasyon gelişirse tedavinin hızlı ve etkin yapılmasıdır (6). Profilakside kullanılan ajanlar ve özellikleri aşağıda maddeler halinde bahsedilmiştir.

Takrolimus ve siklosporin: Kalsinörin inhibitörü olan bu iki ajan ‘’nuclear factor of activated T-cell (NFAT)’’ ailesini inhibe ederek IL-2 ve effektör T hücrelerinin yanıtını ve IL-2 bağımlı regülatuar T hücre yanıtını engellerler. Etki mekanizmaları aynı olmakla birlikte bu iki ajanın yan etki profilleri de benzerlik gösterir.(25)

Metotreksat*:* Dihidrofolat redüktazı inhibe ederek folik asidin tetrahidrofolik aside dönüşümünü engeller. Bu sayede DNA, RNA ve hücresel proteinlerin üretimini ve GVHH oluşumuna neden olan T hücre aktivasyonunu engellemiş olur. Erken posttransplant evrede kullanılır (2).

Mikofenolat mofetil*:* Mikofenolat mofetil ise IMP dehidrogenaz inhibisyonuyla nükleik asid sentezini inhibe ederek, lenfosit proliferasyonunu önler (26).

Sirolimus/ Evorolimus*:* Bu iki ajan mTOR inhibitörü olup klasik T hücre yolağını regülatuar T hücrelerine oranla daha fazla suprese edip mTOR/ protein kinaz- B yolağını inhibe eder (27).

Siklofosfamid*:* Transplantasyon sonrası iki doza bölünmüş olarak prolifere T hücreleri üzerinde sitotoksik etki göstererek özellikle haploidentik nakillerde in vivo T hücre deplesyonunda ve GVHH profilaksisinde kullanılmaktadır (28)(29).

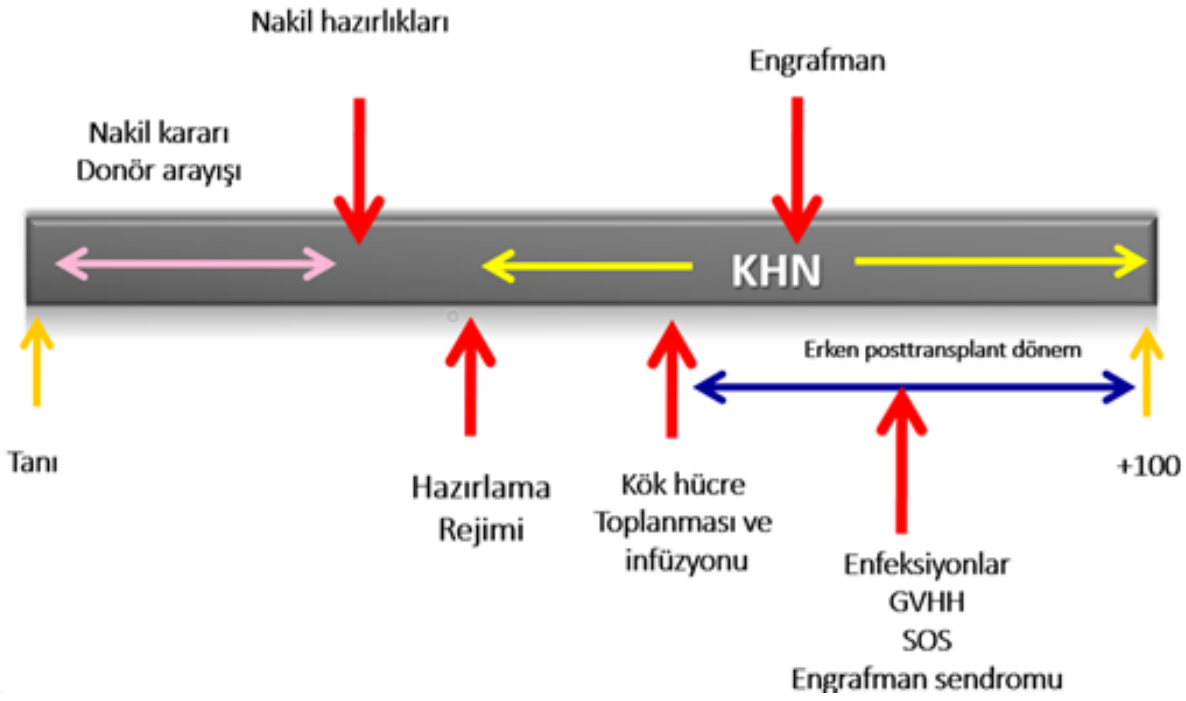
T hücre deplesyonu*:* T hücre deplesyonunda birincil amaç GVHH’ye neden olan effektör hücrelerin transplantasyon öncesi donör graftından ex vivo olarak uzaklaştırılmasıdır. Birçok metodla gerçekleştirilebilecek bu yöntemin asıl prensibi CD34 seleksiyonudur. T hücre deplesyonu; tek başına kullanılabildiği gibi, diğer profilaktik ajanlarla kombine şekilde kullanılabilir (30).

Alemtuzumab: Anti CD52 monoklonal antikorudur. CD52, lökositlerde bulunan bir protein olup, alemtuzumab CD52'ye bağlanarak akut ve kronik GVHH gelişmesini engeller (26).

In vivo ATG (Tavşan veya at anti-timosit globulin): Antitimosit globülin (ATG), purifiye edilmiş tavşan anti-T lenfosit immünglobulinidir. Hem akut GVHH'nin engellemesinde hem de steroide dirençli akut GVHH tedavisinde kullanılan ajanlardan biridir (31).

4.1.6. Nakil Süreci ve Engrafman

Hematopoetik kök hücre nakli kararı; hastalık tanısı konduktan sonra uygun endikasyon varlığında alınır. Nakil kararını, uygun verici arayışı ve nakil hazırlıkları izler. Uygun vericinin bulunmasının ardından, altta yatan hastalığa göre oluşturulmuş rehberler ışığında hazırlama rejimi ve GVHH profilaksisi verilir ya da hazırlama rejimi verilmeden hasta nakle hazırlanır. Daha önceki bölümlerde bahsedilen kök hücre kaynakları vericiden uygun yöntemle toplanarak hastaya infüzyon yoluyla verilir. Transplant sonrası ilk 30 gün erken, 30-100. günler arası orta, 100. gün sonrası da geç dönem olarak üçe ayrılmıştır. HKHN'de nakil süreci şematik olarak şekil 4.1'de gösterilmiştir (5)(19).



Şekil 4.1: Hematopoetik kök hücre nakli süreci

Engrafman, myeloid engrafman ve trombosit engrafmanı olmak üzere ikiye ayrılır. Myeloid engrafman total nötrofil sayısının 3 farklı günde ve ölçümde ≥ 500 /mm^3 olması olarak tanımlanır. Trombosit engrafmanı, trombosit desteği olmaksızın 3 farklı günde alıcının trombosit sayısının ≥20 x 10^9/L olması olarak tanımlanır. Verici kök hücre kaynağına göre engrafmanın görülme günleri farklılık gösterebilir. (Periferik kök hücre> kemik iliği> kordon kanı) Bununla birlikte GVHH için verilen profilaksiler de engrafman gününü etkileyebilir (32).

4.1.7. Hematopoetik Kök Hücre Nakline Bağlı Komplikasyonlar

Hematopoetik kök hücre nakli yapılan hastalarda ortaya çıkan komplikasyonların değerlendirilirken tedavi sürecinin tamamı göz önünde bulundurulmalıdır. Hazırlama rejiminin yoğunluğuna bağlı organ toksisiteleri erken ve geç dönem yan etkiler olarak karşımıza çıkabilmektedir. Pediatrik hematopoetik kök hücre naklinde akut dönemde immün sistemin baskılanmasına bağlı ciddi enfeksiyonların görülmesi, akut GVHH gibi mortaliteyi büyük derecede arttıran komplikasyonların ortaya çıkması HKHN sonrası kısa ve uzun dönem izlem ilkelerinde gelişmelere neden olmuştur (14).

Transplant ilişkili komplikasyonun daha iyi anlaşılabilmesi ve komplikasyonların bazı evrelerde daha sık görülmesi nedeniyle transplant sonrası ilk 30 gün erken, 30-100. günler arası orta, 100. gün sonrası da geç dönem olarak üçe ayrılmıştır. Transplant ilişkili komplikasyonlar aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır. Ciddi mortaliteye neden olan akut graft versus host hastalığı, tedavisi ve akut graft versus host hastalığının prognozunu öngörmede kullanılan biyomarkırlar ayrıntılı olarak ele alınacak olup, diğer komplikasyonlardan kısaca bahsedilecektir.

Enfeksiyöz komplikasyonlar: Hematopoetik kök hücre nakli sonrası hastalar geçici; ama ciddi bir immün yetmezlik safhasındadır. Bu yüzden hastalar çeşitli enfeksiyonlar açısından büyük risk altındadır. Allojenik nakil sonrası alıcılar, her dönem risk altındayken; otolog transplant sonrası preengrafman ve erken dönem alıcılar için daha riskli bir dönemi oluşturmaktadır (33)(34).

Greft reddi-kaybı: Greft rejeksiyonu, alıcının rezidüel immün sistemi tarafından vericinin hematopoetik elemanlarının rejeksiyonu olarak tanımlanır. Daha çok aplastik anemi nedeniyle HKHN yapılan hastalarda alıcı verici arasındaki HLA uyumsuzluğu nedeniyle ortaya çıkar. Düşük yoğunluklu hazırlama rejimlerinin kullanılması da alıcının immün sistemini tamamen yok edemediğinden greft reddine neden olabilir (19).

Engrafman sedromu: Engrafman sendromu , nötrofil engrafmanının başladığı ilk 72-92 saat içerisinde proinflamatuar sitokinlerin salınımı sonucu ateş, vücut döküntüsü, pulmoner ödem ile karakterize bir tablodur (14).

Venookluzif hastalık (Sinuzoidal obstrüksiyon sendromu) *:* Hepatik venookluzif hastalık ya da diğer bilinen adıyla sinüzoidal obstrüksiyon sendromu (SOS), santral venüler tıkanıklıkla karakterize olup bu tıkanıklığa sinüzoidal endotelyal hasar, subendotelyal ödem, kan akımının intrahepatik obstrüksiyonu, hepatosellüler nekroz ve yoğun fibrozis yol açar (36).

Kronik graft versus host hastalığı*:* Kronik graft versus host hastalığı, allojenik kök hücre nakillerinde görülen ciddi komplikasyonlardan biridir. %30-70 oranında görülür. Kronik GVHH, çeşitli otoimmün ve immün prezentasyonlarla karakterize bir sendromdur (35).

Gastrointestinal ve oral komplikasyonlar: Gastrointestinal ve oral komplikasyonları preengrafman ve peri/ postengrafman komplikasyonlar olarak ayırmak tanı kolaylığı ve tedavi yönetimi açısından daha doğrudur. Preengrafman dönemde bulantı, kusma, ishal, nötropenik enterokolit ve mukozit gibi durumlar görülürken; peri/ post engrafman döneminde ise akut GVHH, sinüzoidal obstrüksiyon sendromu, engrafman sendromu ve gastrointestinal sistemin enfeksiyoz hastalıkları sayılabilir (37).

Pulmoner komplikasyonlar*:* Pulmoner ödem, idiopatik pnömoni sendromu, diffüz alvoler hemoraji ve bronşiolitis obliterans HKHN sonrası karşımıza çıkan pulmoner komplikasyonlardan bazılarıdır (38)(39).

Renal komplikasyonlar*:* Hemorajik sistit ve akut böbrek hasarı HKHN sonrası görülen renal komplikasyonlardandır (40).

Kardiyovasküler komplikasyonlar*:* Siklofosfamide bağlı myoperikardit; perikardial tamponad, nabızsız elektriksel aktivite, daha önce kardiyak problemi olan hastalarda sıvı yükü, enfeksiyöz ajanların tedavisinde kullanılan ilaçların yan etkilerine bağlı sorunlar, kardiyomiyopati, pulmoner emboli, elektrolit anormallikleri ve tiroid disfonksiyonuna bağlı malign aritmiler HKHN sonrası kardiyovasküler komplikasyonlardan bazılarıdır (41).

Nörolojik komplikasyonlar: Kalsinörin inhibitörlerine bağlı tremor, palmar/ plantar dizestezi, ellerde yanma hissi görülebilir. Hipertansif krize bağlı posterior reversibl ensefalopati sendromu (PRES) gelişebilir. Bu tablonun serebral ödemden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bunun yanısıra fırsatçı mikroorganizmalarla santral sinir sistemi enfeksiyonları ve hazırlama rejimine bağlı jeneralize tonik klonik nöbetler HKHN sonrası görülen nörolojik komplikasyonlardandır (42).

Geç endokrinolojik komplikasyonlar*:* Geç endokrin komplikasyonlar, özellikle pediatrik HKHN başarısının artmasının ardından uzun dönem yaşayan hastalarda tedavi yönetiminin en önemli olduğu alanlardan biridir. Özellikle puberte öncesi HKHN yapılmış hastalarda, kullanılan hazırlama rejimi, GVHH profilaksisi ve tedavisi, total vücut ışınlamasının büyüme hormonu salınımını etkilemesi; tiroid bezi, over ve testislerin hasarlanması gibi faktörler geç endokrinolojik yan etkilere yol açmaktadır (43).

4.1.8. Akut Graft Versus Host Hastalığı (a GVHH)

4.1.8.1. Tanım

Hematopoetik kök hücre naklinin en önemli komplikasyonlarından biri olan akut graft versus host hastalığı, nakil sonrası görülen en önemli morbidite ve mortalite nedenlerindendir. Tam uyumlu nakillerin %35-45'inde, yarı uyumlu nakillerin %60-80'inde görülmektedir. Mortalite oranları %20 olarak bildirilmekle birlikte klinik durum ve risk faktörlerinin birleşmesiyle bu oran %80-90'a kadar çıkabilmektedir (6).

Bağışıklığı yeterli verici hücrelerinin, bağışıklığı baskılanmış alıcının konak dokularını fark edip yabancı olarak algılaması ve bunun sonucunda da cilt, mukoza, gastrointestinal sistem, karaciğer ve akciğer tutulumu olması GHVH olarak tanımlanmaktadır. İlk kez 1956 da sıçan modellerinde Barnes ve Loutit tarafından tanımlanmış; 1966 yılında Billingham, GVHH gelişimi için üç koşulun gerektiğini açıklamıştır.

(1) Graftın immünolojik olarak yeterli (kompetan) hücrelerinin olması;

(2) Alıcının, nakil vericisinde olmayan doku antijenlerini eksprese etmesi

(3) Alıcının, verici hücreleri ile savaşmak için yeterli yanıt üretememesi

Akut GVHH klasik olarak cilt, karaciğer ve gastrointestinal sistemi etkiler. En sık rastlanan ve klasik triad olarak bilinen bulguları; deride eritematöz döküntü (%81), sarılıkla karakterize hepatit (%50) ve gastroenterittir (karın ağrısı ve ishal) (%54). Bu semptomlar tek başına ortaya çıkabileceği gibi üçü birlikte ve aynı anda klinik tabloyu başlatabilir (44).

1-Deri; en sık etkilenen ve çoğunlukla ilk tutulan organdır. Karakteristik eritamatöz ve makülopapüler döküntü, kaşıntılı olup kafa derisi hariç bütün vücuda yayılabilir.

2-Gastrointestinal sistem tutulumu genellikle; ishal ile ortaya çıkar; kusma, anoreksi, karın ağrısı da eşlik edebilir. GVHH'de görülen diare, sekretuar ve genellikle hacimlidir. Mukozal ülserasyonun sonucu olarak kanama da görülebilir; kötü prognozun göstergesidir. Mukozada yama tarzında tutulum olduğu için endoskopide normal görülebilir.

3-GVHH'e bağlı karaciğer hastalığını; kemik iliği nakli sonrası görülen diğer karaciğer bozukluklarından (venookluzif hastalık, toksik ilaç etkisi, viral enfeksiyonlar, sepsis veya demir yüklenmesi) ayırt etmek zor olabilir. Karaciğer GVHH'sinin histolojik bulguları; endotel hasarı, portal alanda lenfosit infiltrasyonu, perikolanjit ve safra kanalı destrüksiyonudur (45).

4.1.8.2. Etyoloji ve Risk Faktörleri

Akut graft versus host hastalığının gelişiminde rol oynayan risk faktörleri aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

- Akraba dışı verici ve HLA uyumsuzluğu, akut GVHH görülmesine neden olan en önemli risk faktörlerindendir.
- Verici ve alıcı yaşının artması
- Cinsiyet uyumsuzluğu (erkek alıcı için multipar kadın verici)
- Hazırlayıcı rejim yoğunluğu: Hazırlayıcı rejim yoğunluğu arttıkça GVHH görülme olasılığı artar.
- GvHH profilaksi rejimi
- Kök hücre kaynağı: Periferik kök hücrenin kaynak olarak kullanıldığı nakillerde akut GVHH görülme olasılığı artmıştır.
- Donorün CMV seropozitif olması (46).

4.1.8.3. Akut Graft Versus Host Hastalığı'nın Genetik Temeli

Akut graft versus host hastalığı'nın genetik temelleri HLA bağımlı ve HLA bağımsız faktörler olmak üzere iki başlık altında incelenebilir.

HLA bağımlı faktörler: MHC (majör histokompatabilite) antijenleri, GVHH gelişiminde en önemli rollerden birini oynamaktadır. MHC genleri ileri derecede polimorfiktir. Alıcı ve verici ne kadar çok HLA antijeni paylaşıyorsa naklin başarısı o kadar artar ve GVHH gelişme olasılığı düşer.(45)(47) mHAg'ler (Minor histokompatabilite antijeni) spesifik MHC molekülleri tarafından verici T hücrelerine sunulan intrasellüler protein deriveleridir. Tam uyumlu kardeş (MSD) vericilerde dahi GHVH gelişiminin nedenlerinden biri mHA antijenleridir. Özellikle alıcı ve verici arasındaki HA-1, 2, 5 uyumsuzluğu GVHH gelişimine yol açmaktadır (48).

HLA bağımsız faktörler: Sitokin gen polimorfizmleri GVHH gelişiminde rol oynayan faktörlerden biridir. Özellikle GVHH patofizyolojisinde afferent fazda yüksek tumor necrosis factor (TNF-α) ve düşük IL-10 seviyelerinin saptanması, çalışmaların bu sitokin genlerindeki polimorfizmlere yoğunlaşmasına neden olmuştur. Diğer aday gen polimorfizmleri ise IL-6, IFN-γ, ve IL-1 gen ailesidir. Bunun yanısıra ilk kez Crohn hastalığının patogenezinde saptanan daha sonra da tam uyumlu kardeş vericilerle yapılan HKHN'lerde GVHH gelişimine neden olduğu düşünülen NOD/ CARD15 tek gen polimorfizmleri de HLA bağımsız faktörler arasında sayılabilir (49).

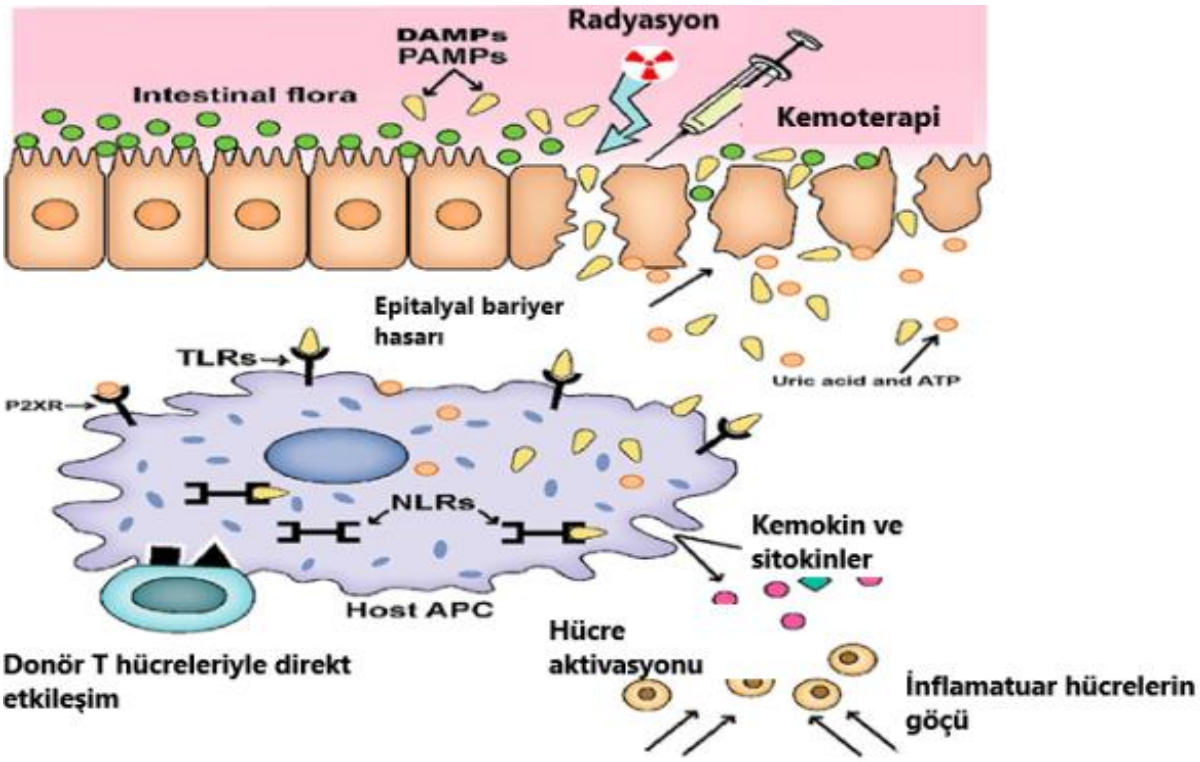
4.1.8.4. Akut Graft Versus Host Hastalığı'nın Patogenezi

Akut graft versus host hastalığının patogenezi 3 fazda incelenebilir: Antijen sunucu hücrelerin aktivasyonu, verici T hücrelerinin aktivasyon/ proleferasyon/ differansiasyonu ve hedef hücre hasarı (50).

Faz 1: Antijen Sunucu Hücrelerin Aktivasyonu:

Akut GVHH'de ilk aşama altta yatan hastalık ve hazırlama rejimi sonrası antijen sunucu hücrelerin aktivasyonudur. Hazırlama rejimi, DAMP'ların (damage associated molecular patterns) ve/ veya alarmın proteinlerinin hasarlı dokuda açığa çıkmasını uyarır. DAMP'lara örnek olarak nükleik asitler, hücre içi proteinler (histon, HSP, aktin, ATP, rölatif oksijen deriveleri); ekstrasellüler proteinler (hyalüronik asit, biglycan) verilebilir. DAMP'lar; TLR (toll like reseptörler), NLR (NOD- like reseptörler) , RIG1 (retionoic acid inducible gene 1 like receptors) , C- tipi lektin, RAGE (receptor for advanced glycation endproducts) , P2XR gibi reseptörlere bağlanır. Alarminlerse IL-1, IL-33 gibi bazı sitokinleri de içeren sürekli eksprese edilen endojen moleküllerdir. Hasarlı ve ölü hücrelerden salınırlar. Hasarlanmış alıcı dokusu, ''tehlike'' sinyaline cevap vererek proinflamatuar sitokinlerin, adhezyon moleküllerinin, MHC antijenlerinin ve kostimulatör moleküllerin antijen sunucu hücrelerde artışına yol açar. Bozulmuş mukozal bariyerlerde özellikle de gastrointestinal sistemde PAMP (pathogen associated molecular patterns) (lipopolisakkaridler, peptidoglikanlar, flagelin, fungal, viral patojenler vb.) translokasyonu gerçekleşir. DAMP ve PAMP etkileşimi, alıcı hasarlı doku hücrelerini daha fazla sitokin ve kemokin salınımı için uyarır. (IL1, TNF-α, IL-6, IL-12, IL-33, IL-23, tip 1 interferon, CCL5) Bu sinyaller antijen sunan hücrelerin (APC) aktive olup verici T hücrelerini uyarmalarına neden olur. (54)

İntestinal mikrobiatanın sağlıklı dokuları koruduğu ve immüniteyi artırdığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda mikrobiatanın akut GVHH gelişimine karşı alıcıyı koruduğu hayvan ve insan çalışmalarında son yıllarda gösterilmiştir. Mikrobiyatanın enfeksiyonlar, antibiyotikler, hazırlama rejimi ve çeşitli mikrobiyal patojenlerle disbiyozise uğraması sonucu bu koruyucu özellik ortadan kalkar ve alıcının intestinal dokuları hasarlanır. (90) Faz 1 aşamasının şematik gösterimi şekil 4.2'de görülmektedir (51).



Şekil 4.2: Akut graft versus host hastalığı patogenezinde faz 1 aşaması (51)

Faz 2: Donör T hücrelerinin aktivasyonu:

GVHH reaksiyonunun en önemli safhası ikinci fazdır. Verici T hücreleri, alıcının antijen sunucu hücrelerine yanıt vererek ilk fazda prolifere ve differansiye olurlar. Bunun sonucunda ortaya çıkan sitokinler de GVHH'nin ortaya çıkmasına neden olur.

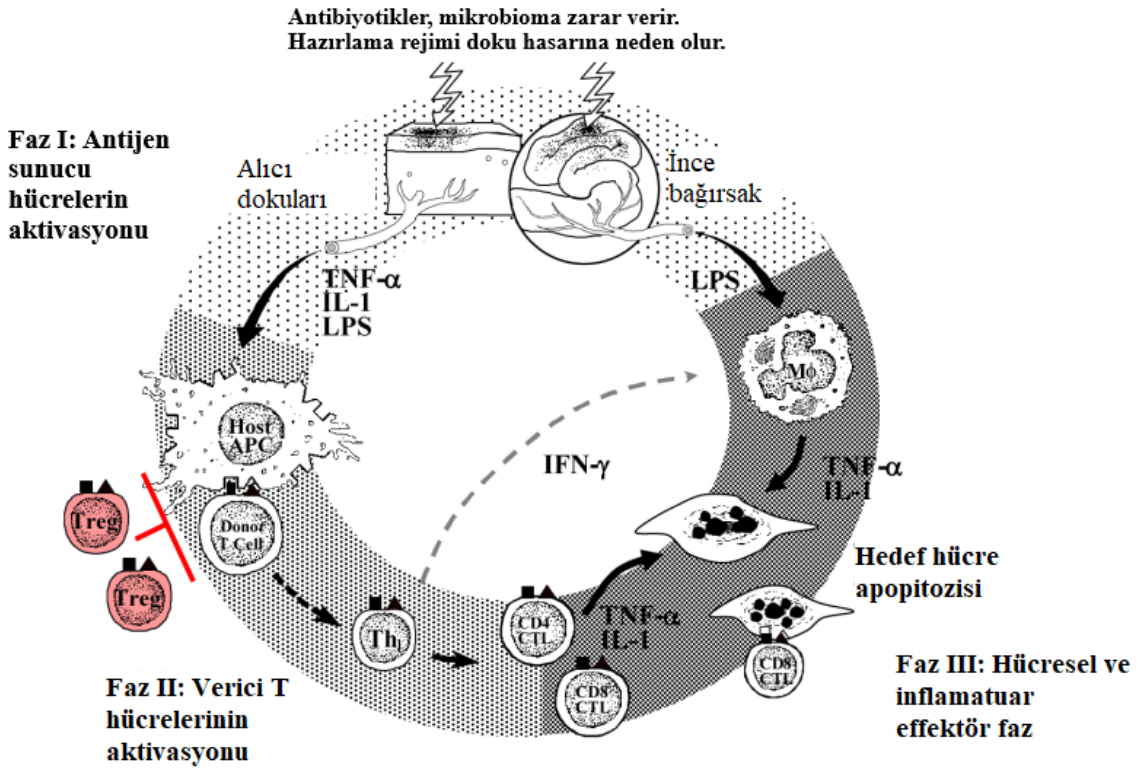
Aktive olan verici T helper 1 hücrelerinden IFN-γ, IL-2, TNF-α gibi sitokinler sanlınır. Bu sitokinler akut graft versus host hastalığında yüksek seviyelerde bulunurlar. IL-2, allojenik immun cevabı kontrol eder ve arttırır. Aynı zamanda T hücre ve Natural Killer T hücre yanıtlarını düzenler ve makrofajlardan TNFα salınımına neden olur. (45) IFN-γ; GVHH oluşumunu kemokin reseptörlerini, MHC proteinlerini ve adhezyon moleküllerini arttırarak sağlar. Ayrıca IFN-γ gastrointestinal ve deri epitelini direk hasara uğratabilir. (53) Regülatuar

T hücreleri (Treg) ise CD4+ T hücre popülasyonunun %5'ini oluşturur. Treg'ler antiinflamatuar sitokin salınımını sağlayarak (IL-10 ve TGF-β) antijen sunucu hücrelerin aktivasyonunu engellerler. (52)

Faz 3: Hücresel ve İnflamatuar Effektör Faz:

Bu fazda hem hücresel (sitotoksik T lenfositleri) hem de soluble inflamatuar mediatörler (TNF-α, IFN-γ, IL-1 ve nitrik oksid) kompleks yolakları aktive ederek doku hasarına neden olurlar (54).

Hücresel efektörler sitotoksik T hücreler ve Natural Killer T hücreleridir. Sitotoksik T hücreleri, Fas/FasL yolağını kullanarak hedef hücrede lizise neden olur ve karaciğer hasarı sonucu GVHH ortaya çıkar. Karaciğer hücrelerinde Fas ekspresyonu daha fazladır. Perforin/ granzim yolağı ise hem cilt hem karaciğer GVHH'sinde rol almaktadır. (55) Akut graft versus host hastalığının bu bölümde ayrıntılı olarak açıklanan patogenezi şekil 4.3'te şematize edilerek özetlenmiştir.



Şekil 4.3: Akut graft versus host hastalığı patogenezi (54)

4.1.8.5. Akut Graft Versus Host Hastalığında Klinik Bulgular

Geleneksel olarak nakil sonrası 100 gün içerisinde gelişirse akut, sonrasında gelişirse kronik olarak tanımlanan GVVH'de, düşük yoğunluklu hazırlama rejimlerinin ve donör lenfosit infüzyonlarının hastalarda kullanılmaya başlanmasıyla klinik tablodaki bu net ayrımın her zaman mümkün olmadığı anlaşımıştır. 2014 yılındaki konsensus kararları doğrultusunda (National Institutes of Health Consensus) akut ve kronik GVHH; iki alt başlığa ayrıldı (Şekil 4.4).

Akut Graft Versus Hastalığı:

Klasik akut GVHH: Eritem, makulopapüler döküntü, bulantı, kusma, anoreksi, ishal, ileus, kolestatik karaciğer hastalığı bulgularının transplant sonrası ilk 100 gün içerisinde olması veya donör lenfosit infüzyonu sonrası hastanın kronik GVHH kriterlerini karşılamaması

Persistan, rekürren, geç başlangıçlı GVHH: Transplant sonrası 100. günden sonra akut GVHH bulgularının görülmesi veya donör lenfosit infüzyonu sonrası hastanın kronik GVHH kriterlerini karşılamaması

Kronik GVHH

1)Klasik kronik GVHH

2)Overlap sendrom (46)(56)(57)

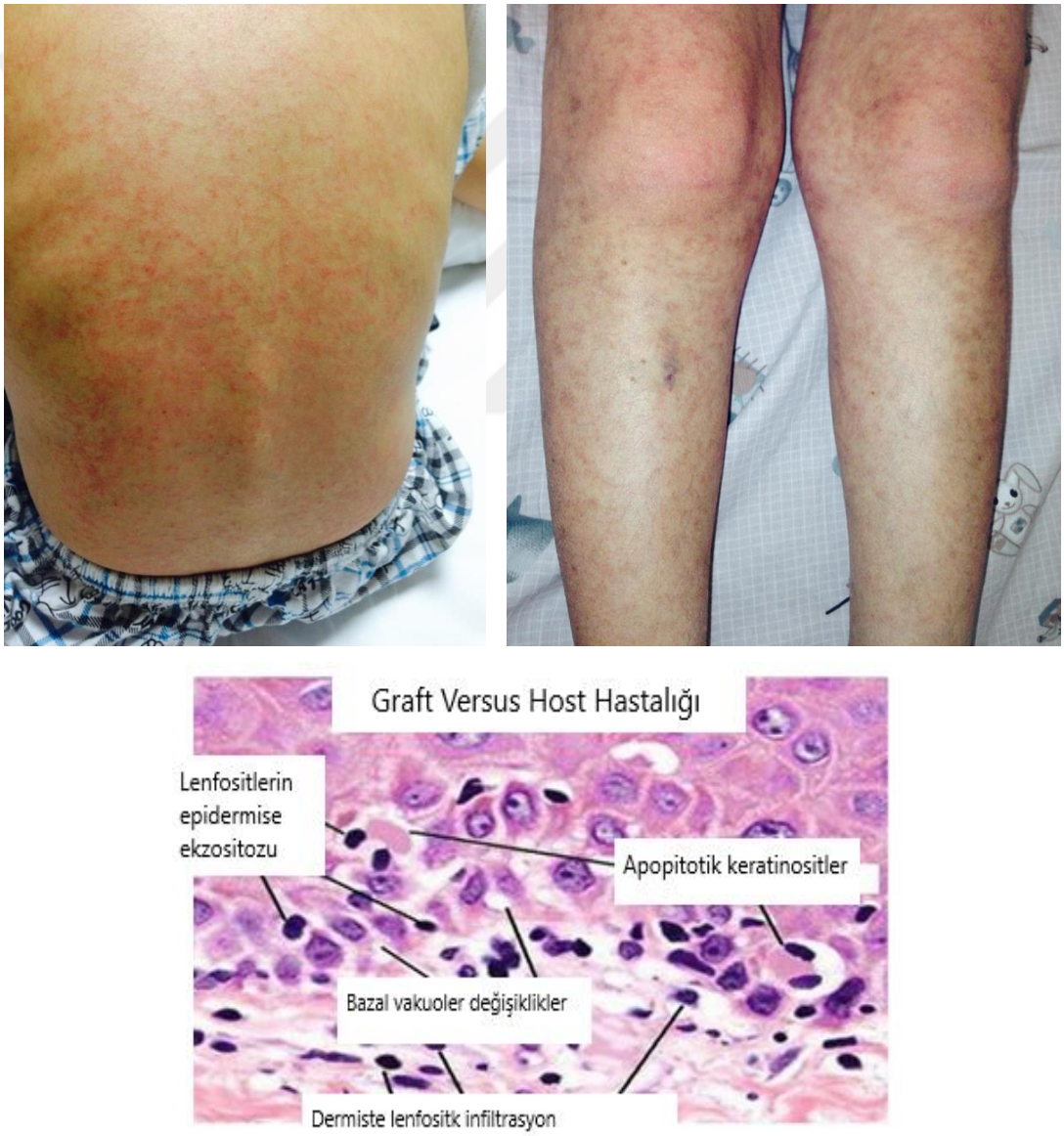
Tablo 4.2. Akut graft versus host hastalığının 2014 NIH konsensusuna göre sınıflanması

	Zaman	**Akut GVHH**	**Kronik GVHH**
Klasik akut GVHH	< 100 gün	Var	Yok
Persistan (Dirençli) **Rekürren (Tekrarlayıcı)** **Geç başlangıçlı**	>100 gün	Var	Yok
Klasik kronik GVHH	Zaman sınırı yok	Yok	Var
Overlap Sendromu	Zaman sınırı yok	Var	Var

Akut graft versus host hastalığında bulgular genellikle nötrofil engrafmanı ile birlikte ortaya çıkar. Başlangıç zamanı sıklıkla HKHN sonrası 1-3. haftalar arasındadır. İpucu

olarak tam kan ve biyokimya testlerinde lenfopeni, eozinofili, trombositopeni ve hipoalbuminemi görülebilir (57).

Cilt tutulumu: Cilt genellikle en çok etkilenen ve ilk tutulan organdır. Ani başlangıçlı ve simetrik tutulumla karakterize olup daha çok avuç içi, ayak tabanı, yanaklar, kulak kepçesi, boyun ve sırtın üst kısmında görülür. Karakteristik döküntü makülopapüler ve pruritik döküntü olup, ciddi vakalarda ülsere lezyonlar görülebilir. Patolojik bulgu olarak ise vakuolizasyon ve apopitotik keratinosit görünümüyle birlikte diskeratozis, lenfosit ekzositozu, diskeratotik epidermal keratinositlerin etrafında satellit lenfositler ve dermiste perivasküler lenfosit infiltrasyonu görülebilir (Şekil 4.4)(58).



Şekil 4.4: Akut GVHH cilt tutulumu (Morfoloji ve patoloji) (Ankara Tıp Çocuk İmmunoloji PİY arşivinden)

Gastrointestinal tutulum: Gastrointestinal tutulumda sekretuar ishal, karın ağrısı, bulantı, kusma, anoreksi, besin intoleransı, dispepsi, gingivit, mukozit görülebilir. Kanama, kötü prognoz göstergesi olup mukozal ülserasyona bağlıdır. Mukozal ülserasyon yamalı tutulumdan dolayı endoskopik araştırmada görülmeyebilir. Radyolojik olarak bilgisayarlı tomografide ince bağırsakta duvar kalınlaşması (ribbon sign); patolojik görünüm olarak ise yamalı ülserasyon, kript zemininde apoptotik cisimler, kript abseleri, epitelyal yüzeyin bütünlüğünün bozulması görülebilir (54).

Karaciğer tutulumu: Karaciğer GVHH'si, ayırıcı tanı yelpazesi geniş olduğundan tanısının konulması zor bir durumdur. Venookluzif hastalık, ilaç toksisitesi, viral enfeksiyonlar, sepsis ve demir yükü gibi durumlarla karışabilir. Karaciğer tutulumu 3 farklı klinikle prezente olabilir.

Klasik form: ALP'nin 2-3 kat artması, bilirubinlerde belirgin artış ,ALT ve AST'de hafif artış

Hepatik varyant: Sarılık olmaksızın ALT ve AST ani-belirgin artış (>x10 kat, diğer organ tutulumları olmaksızın)

Yavaş ilerleyici kolestaz: ALP ve GGT 'de yavaş ilerleyici artış, sonrasında sarılık

Patolojik görünüm olarak ise endotelialitis, portal alanda lenfosit infiltrasyonu, perikolanjitis ve safra yolu destruksiyonu görülmektedir (59).

4.1.8.6. Akut Graft Versus Host Hastalığı'nda Evreleme

Akut GVHH evrelemesinde şu ana kadar çeşitli sınıflamalar mevcut olup, en son kullanılan kriterler 2016 yılında MAGIC (Mount Sinai Acute GVHD International Consortium) kriterleri tarafından oluşturulan kriterlerdir. Yetişkinler ve pediatrik hasta popülasyonu için evreleme sistemi aynı olsa da pediatrik yaş grubundaki sınıflamada bazı farklılıklar mevcuttur. Evreleme sistemi evre 0-4 ve grade 0-4 olmak üzere beş alt gruba ayrılmaktadır. Evrelemede deri döküntüsünün yaygınlığı, bilurubin yüksekliği, üst GIS semptomları ve alt GIS tutulumunda ishal miktarı göz önüne alınmıştır. Gradeleme ise evreleme sistemindeki basamaklara göre değerlendirilir. Tablo 4.3'te akut GVHH'da kullanılan pediatrik evreleme ve gradeleme sistemi görülmektedir. (60)

Tablo 4.3: Akut graft versus hastalığı pediatrik evreleme sistemi

Evre	Deri (Aktif Eritem)	Karaciğer (Bilirubin)	Üst GIS	Alt GIS (dışkı miktarı/gün)
0	Aktif eritamatöz döküntü yok	<2 mg/dl	Yok ya da aralıklı kusma, bulantı, anoreksi	<10 ml/kg/gün ve ya günde 4'ten az
1	Makülopapüler döküntü <%25	2-3 mg/dl	Persistan bulantı, kusma, anoreksi	10-19 ml/kg/gün Günde 4-6
2	Makülopapüler döküntü %25-50	3.1-6 mg/dl		20-30 ml/kg/gün Günde 7-10
3	Makülopapüler döküntü >%50	6.1-15 mg/dl		>30 ml/kg/gün Günde 10'dan fazla
4	Jenaralize eritrodermi (>%50)+ büllöz lezyonlar/ deskuamasyon (>%5)	>15 mg/dl		Ciddi karın ağrısı +/- ileus ve ya kanlı ishal

Grade 0:Hiçbir organda evre 1-4 tutulumu yok
Grade 1: Evre 1-2 cilt (karaciğer ve GIS tutulumu olmaksızın)
Grade 2:Evre 3 raş ve/veya evre 1 karaciğer ve/veya evre 1 üst/alt GIS tutulumu
Grade 3:Evre 2-3 karaciğer ve/veya evre 2-3 alt GIS +evre 0-3 cilt ve/veya evre 0-1 üst GIS
Grade 4: Evre 4 cilt, karaciğer ve ya alt GIS+ evre 0-1 üst GIS

4.1.8.7. Akut Graft Versus Host Hastalığında Tedavi

Akut GVHH, öngörülebilmesi ve tedavi edilebilmesi zor olan bir HKHN komplikasyonudur. Özellikle akut GVHH tanısı konduktan sonra tedavinin erken ve etkin biçimde başlanması gerekmektedir; fakat tedavi anlamındaki rehberler kısıtlıdır ve ek tedavi prensipleri bu rehberlerin çoğunda yer almamaktadır. Bu bölümde akut GVHH tedavisinin genel prensiplerinden bahsedilecektir.

Genel tedavi prensibi olarak orta düzey hastalıkta topikal tedavi, ciddi ve yaygın hastalıkta sistemik tedavi önerilmektedir. Tedavinin ilk basamağını topikal ve sistemik steroidler oluşturur. Aynı zamanda bu basamakta profilakside kullanılan ajanların dozları titre edilir. Eğer bu basamakta başarısız olunursa ikinci basamak ajanlar tedavide kullanılır. (61)

Lokalize akut GVHH'da grade 1 cilt tutulumunda EBMT (The European Blood and Bone Marrow Transplantation) rehberi topikal steroid önermektedir. Bu amaçla %0.1'lik triamsinolone ve betametazon kullanılabilir. Bu dozlardaki topikal steroidler gövde ve ekstremitelerde kullanılabilir. Hidrokortizon ise yüz ve boyunda güvenle kullanılabilir. Cilt GVHH'sinde bu tedavilerin yanısıra nemlendiriciler-ve kaşıntıyı önleyici ajanlar kullanılabilir. (62) Topikal kalsinörin inhibitörlerinin kronik GVHH ve steroid dirençli cilt GVHH'si için çeşitli rehberlerde kullanımı önerilmiştir. Özellikle bu amaç için kullanılan ajan takrolimustur. Tedavide tek ajan olarak kullanılmasa da steroid bağımlı hastalarda ve cilt atrofisi gelişmiş olgularda yararlı olabileceği çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (63).

İlk basamak sistemik tedavide kullanılacak ajan oral veya iv metilprednizolondur (64). Grade 2-4 akut GVHH vakalarında kullanılan sistemik steroidler, inflamatuar sitokin yolağını baskılayarak etki gösterirler. Metilprednizolon bölünmüş dozlarda 2 mg/kg/g olarak başlanır. Steroide yanıtlı olgularda, klinik durumda göz önünde bulundurularak tedavi başlangıcından 7-14 gün sonra, 4 günlük aralıklarla steroid dozunun %10 azaltılarak kesilmesi planlanmalıdır. Steroid dozu 0.2-0.3 mg/kg (veya ≤20 mg) dozuna inildikten sonra adrenal aks baskılanmasının düzelmesi açısından takip eden 2-3 haftalık sürede günaşırı dozda uygulanmalıdır. Steroid kesilirken alevlenme olması durumunda 7 günlük 20 mg/m^2 prednizon veya 2-4 günlük 2 mg/kg prednizon tedavisi uygulanmalıdır. Steroid yanıtı üç başlık altında toplanabilir (61).

Steroid refrakterliği veya direnci: 2 mg/kg/g kortikosteroid tedavisine 7-10 gün içinde yanıt yoksa, 3-4 gün içinde klinik kötüleşiyorsa veya steroid içeren 28 günlük immünsupresif tedaviye tam yanıt yoksa steroid direnci veya yanıtsızlığı söz konusudur. Diğer organ tutulumlarında iyileşme olsun veya olmasın, bir veya daha fazla organ tutulumunda kötüleşme olması progresyon kabul edilmektedir. Ciddi lökopeni (wbc <200 hücre/ mm^3) ve total lökosit sayısında 10 kattan fazla düşüş de birinci basamak tedaviye yanıtsızlığı gösterir.

Steroid bağımlılığı: 2 mg/kg/g steroid tedavisini azaltamama veya steroid azaltırken akut GVHH rekürrensi olması

Steroid intoleransı: Steroid kullanımına bağlı akut/tolere edilemeyen toksisite izlenmesi olarak tanımlanmaktadır.

Sistemik steroid maruziyetini azaltmak amacıyla yapılan bir çalışmada gastrointestinal sistemden absorbe edilmeyen budesonidin orta şiddetteki grade 2 GIS GVHH'si formlarında etkili olabileceği belirtilmiştir (65).

EBMT rehberi, steroid direnci olması durumunda, ikinci bir ajanın tedaviye eklenmesini önerir. Bu ajanlar tek başına kullanılabileceği gibi, kortikosteroidle kombine olarak da kullanılabilirler. Ortalama olarak MSD nakil yapılan hastaların %40'ı ve MUD nakil yapılan hastaların %25'i tedaviye yanıt verirler. Tedaviye yanıtsız ve dirençli olgularda ise en iyi tedavi seçeneğinin hangisi olduğu hala tartışma konusudur. Tablo 4.4'te steroid dirençli olgularda kullanılan ikinci basamak tedavi ajanlarının özellikleri özetlenmiştir (62).

Mezenkimal kök hücre, başlıca kemik iliğinde bulunan pluripotent bir hücre topluluğudur. Bundan başka yağ dokusu, plasenta, amnion sıvısı ve fötal dokularda da bulunur. Mezenkimal kök hücreler, pek çok hücre tipine dönüşebilir. (Kondrosit, adiposit, osteoblast, myosit). CD 105, CD 73, CD 90 eksprese ederler. Yüzeylerinde CD 45, CD 34, CD 14, HLA DR, CD 116, CD 79a, CD 19 ekspresyonu mevcut değildir. Doku hasar tamirinde ve

inflamasyon regülasyonunda görevlilerdir. Vücut dışında kolaylıkla çoğaltılabilir. Mezenkimal kök hücreler güçlü immünsupresif etkileri nedeniyle allojenik kök hücre nakillerinden sonra gelişen akut GVHH tedavisinde kullanılmıştır (66).

Tablo 4.4: Akut GVHH tedavisinde kullanılan ikinci basamak tedavi ajanları

İlaç	Etki mekanizması	Kullanım alanı	Yan Etki
Alemtuzumab	Anti CD52 monoklonal antikoru	Cilt, karaciğer	Enfeksiyon riskinde artış. EBV, CMV reaktivasyonu, EBV ilişkili lenfoproliferatif hastalık
Antithymocyte globulin	Rabbit (tavşan) veya quine (at) poliklonal antikorları (T hücre hedefler)	Cilt, gastrointestinal sistem, karaciğer	Sepsis Anafilaksi Serum Hastalığı Dispne, pulmoner ödem Lökopeni,trombositopeni Döküntü
Basiliximab	IL-2 reseptör antagonisti	Cilt	Akut alerjik reaksiyon CMV reaktivasyonu Kandidiazis Dizüri Öksürük, dispne, ödem, hipertansiyon Karın ağrısı, kusma
Beklametazon	Adrenal glukokortikoid	GIS	Minimal
Budesonid	Adrenal glukokortikodi	GIS	Kusma, ishal Artralji Baş ağrısı Cushing sendromu Solunum sistemi enfeksiyonları
Denilökin diftitox	IL-2 reseptör antagonisti	Cilt, karaciğer	Kapiller kaçak sendromu Anafilaksi Pulmoner ödem Döküntü, kaşıntı Artralji, miyalj,, baş ağrısı Dispne, öksürük
Etanercept	Anti TNF	GIS	Karın ağrısı Baş ağrısı Enjeksiyon bölgesinde lokal yan etki Sitopeni
Ekstrakoporeal fotoforez	Lökosit apopitozonun indüklenmesi ve antijen sunucu hücrelerin aktivitesinin immünmodülasyon lehine çevrilmesi	Cilt, karaciğer	Vazovagal senkop, hipotansiyon Anemi, trombositopeni Santral venöz katater ilişkili komplikasyonlar
Infliximab	Anti TNF	GIS	Ciddi sepsis Akut koroner sendrom Eritema multiforme, Stevens Johnson sendromu Karın ağrısı, kusma Baş ağrısı

Tablo 4.4: (Devamı)

Inolimumab	IL-2 reseptör antagonisti	Cilt, karaciğer	Allerjik reaksiyon
Mikofenolat mofetil	IMP dehidrogenaz inhibisyonu Lenfosit proliferasyonunun engellenmesi	Cilt, karaciğer	Hipertansiyon, periferal ödem Hiperlipidemi Elektrolit bozukluğu Oppurtinistik enfeksiyonlarda artış Karın ağrısı, baş ağrısı, renal fonksiyonlarda bozukluk Dispne, öksürük Pansitopeni Progresif multifokal lökoensefalopati
Pentostatin	Adenozin deaminaz inhibisyonu Lenfosit apoptozu	Cilt, GIS, karaciğer	Enfeksiyon riskinde artış Sitopeni Karın ağrısı, stomatit, transaminit Döküntü, kaşıntı Hiponatremi, akut böbrek hasarı Mikroanjiopatik hemolitik anemi
Sirolimus, evorilimus	m TOR inhibisyonu	Cilt, GIS, karaciğer	Hiperlipidemi hipertrigliseridemi, orta düzey nötropeni trombositopeni

4.1.8.8. Akut Graft Versus Host Hastalığı'nı Öngörmede Kullanılan Biyomarkırlar

Hematopoetik kök hücre naklinin en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden biri olan akut graft versus host hastalığını öngörmek, tedaviye yanıtı değerlendirmek ve hastalık prognozunu değerlendirmek için dünya çapında prognostik bir biyomarkır bulma çalışmaları devam etmektedir; fakat pediatrik yaş grubunda HKHN sonrası gelişen akut GVHH için henüz prognostik bir biyomarkır bulunamamıştır. (6)

Transplant ilişkili mortalite, primer hastalığın relapsı dışında olan mortalite nedenlerini ifade eder. Bu durumlar akut ve kronik GVHH, enfeksiyonlar ve sekonder kanserlerdir. Biyomarkırlar; biyolojik ve patolojik süreçleri, tedaviye yanıtı değerlendirmeyi sağlayan ve bu amaçla oluşturulan belirteçlerdir. The Biomarker Working Group of the National Institutes of Health Consensus Devolepment of Project, biyomarkırları *diagnostik, prognostik, prediktif ve tedaviye yanıtı değerlendiren* biyomarkırlar olmak üzere 4 alt gruba ayırmışlardır.(67)

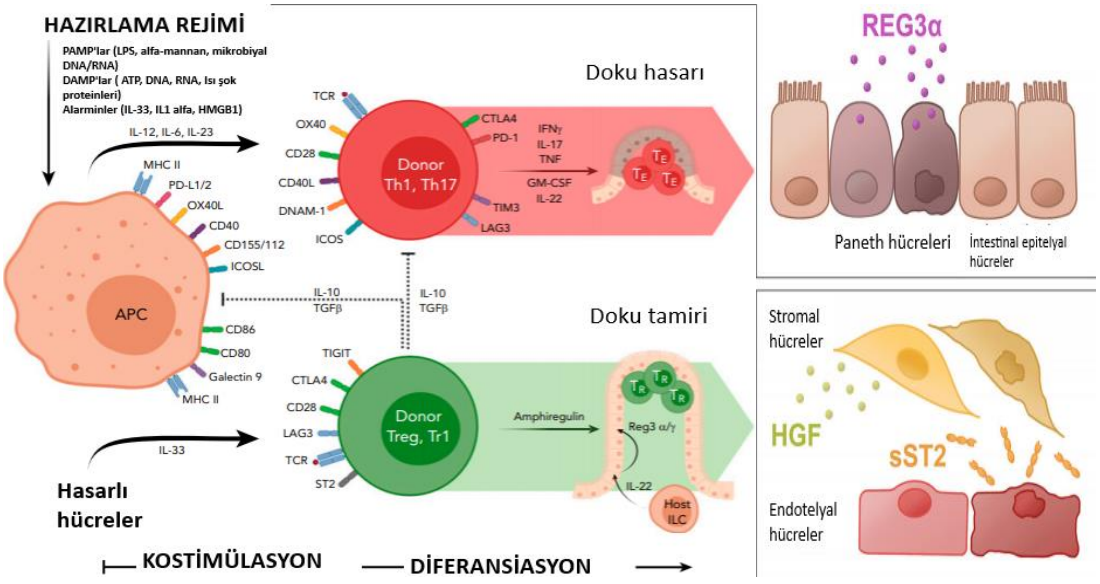
Yetişkin hasta grubunda kullanılabilecek biyomarkırları belirlemeye yönelik birçok çalışma bulunmaktadır. (55) IL2 Rα, IL-8, TNFR1, IL-6, TIM3, amfiregülin, elafin gibi birçok biyomarkır akut GVHH'yi öngörmede kullanılan aday biyomarkırlardan bazılarıdır. (80) Bu biyomarkırlardan yetişkinlerde en çok çalışanlarından ikisi ST-2 ve Reg3α olmuştur. Bu iki biyomarkerın kullanımını anlayabilmek için, öncelikle akut GVHH patogenezindeki rollerini

bilmek gerekir. Akut GVHH patogenezi önceki bölümlerde ayrıntılı anlatılmış olup bu bölümde ST2 ve Reg3α'nın patogenezdeki rollerine değinilecektir.

4.1.8.9. ST2 ve Reg3 α'nın aGVHH Patogenezindeki Rolleri

IL-33, IL-1 ailesi üyesi olup; hasar görmüş veya ölüme gitmiş hücrelerden, bu hücrelerin degranülasyona uğraması sonucu salınır. IL-33'ün bağlandığı reseptör GVHH progresyonunda rol oynayan aktif T hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilen ST-2'dir. (growth stimulation expressed gene 2, serum stimulation-2 veya suppressor of tumorigenicity-2 olarak da adlandırılır.) ST2'nin membran bağlayıcı ve soluble olmak üzere 2 formu bulunmaktadır. IL-33, yapılan çalışmalarda hazırlama rejimi öncesi alıcının regülatuar T hücrelerini arttırarak, GVHH oluşumunu engeller. Hazırlama rejimi sonrası hasarlı dokudan salınan ve regülatuar T hücrelerin yokluğunda ise effektör T hücreleri aktive ederek GVHH oluşumuna neden olur. IL-33, GVHH oluşumunu engelleme görevini membran bağlayıcı ST-2'ye bağlanarak ve Treg'leri aktive ederek gerçekleştirir. Bu aktivasyon sonucu IL-33/ ST2 etkileşimi hücre tamirini sağlar. Soluble ST2 ise Th1 ve Th17 hücrelerinden salınarak IL-33'e bağlanır ve IL-33/ membran bağlayıcı ST2 etkileşimini engelleyerek akut GVHH oluşumunda rol oynar. (Şekil 4.5) (68).

Reg3α (Regenerating islet-derived protein), gastrointestinal epitel hücrelerinden salınır. C -tip lektin ailesindendir ve özellikle hasar gören Paneth hücrelerine özgüdür. Akut GVHH esnasında Paneth hücre hasarı nedeniyle üretimi azalsa da, kandaki düzeyi gastrointestinal GVHH esnasında belirgin olarak artmaktadır (69).



Şekil 4.5: a) Akut GVHH patogenezinde IL-33/ ST2 etkileşimi, b) ST2 ve Reg3α (69)

Hartwell ve arkadaşlarının Ocak 2005- Haziran 2015 tarihleri arasında yaptığı 11 merkezden 1287 hastanın dahil olduğu bir çalışmada GVHH'yi oluşmadan önce belirleyecek bir biyomarkır bulunması amaçlanmıştır. The Mount Sinai Acute GVHD International Consortium (MAGIC)'in GVHH gelişiminde risk faktörü olarak belirlediği "HLA uyumsuzluğu, akraba dışı donör, hazırlayıcı rejim yoğunluğu, yaş" kriterlerine göre hastalar yüksek risk ve düşük risk grubu olarak ikiye ayrılmıştır. Hastalardan HKHN sonrası 7±3. günlerinde serum örneği alınmış ve ST2/Reg3α düzeylerinin kullanıldığı bir algoritma yaratılmıştır. Bu iki biyomarkırın kullanıldığı algoritma; yüksek risk kategorisine giren hastalarda transplant ilişkili mortaliteyi, steroid direncini postnakil +7. günde öngörmede başarılı olmuştur. Bunun yanısıra bu iki biyomarker, akut GVHH'nin klinik ve patolojik bulguları HKHN yapılan hastalarda gelişmeden önce kanda yükselerek akut GVHH'yi öngörmede başarılı bulunmuştur (7). Bu çalışmadan bir yıl sonra Monfried ve arkadaşlarının aynı algoritmayla kullandığı 17 merkezden 507 hastanın dahil edildiği çalışmada; akut GVHH gelişen hastalarda tedavi başlandıktan sonra 7 gün sonra alınan serum örneklerinde ST2 ve Reg3α ELISA yöntemiyle çalışılmış olup, geliştirilen algoritmanın 1 yıllık transplant ilişkili mortaliteyi ve steroid direncini ciddi klinik özellikler ortaya çıkmadan öngörebildiğini göstermiştir (70).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Çalışmanın Dizaynı

Bu çalışma hematopoetik kök hücre nakli yapılan pediatrik hastalarda, serum ST2 ve Reg3α düzeylerinin, akut GVHH saptamada bir biyomarkır olup olmadıklarını belirlemeyi amaçlayan prospektif bir çalışmadır.

Çalışma için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan Ocak 2019'da onay alınmıştır. Başlangıçta Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı'nda takip edilen primer immün yetmezlik tanısıyla hematopoetik kök hücre nakli yapılacak hastaların hasta popülasyonunu oluşturması planlandı. COVİD-19 pandemisi nedeniyle nakil yapılan hasta sayısının düşmesi üzerine hedeflenen hasta sayısına ulaşılamayacağı öngörülerek proje önerisinde B planında belirtilen HKHN yapılan çocuk hematoloji hastaları da çalışmaya dahil edildi ve isim değişikliği yapılmak üzere tekrar etik kurul başvurusu yapıldı. (Karar No: İ6-357-20, tarih 23.06.2020)

Bu tez çalışmasının finansal desteği için Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri'ne proje başvurusu yapıldı, 06.01.2020 tarihinde 20L0230003 proje nosuyla BAP projesi olarak kabul edildi.

Çalışmanın örneklemini Ocak 2019- Ocak 2021 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi'nde Primer İmmün yetmezlik ve hematolojik hastalıklar nedeniyle hematopoetik kök hücre nakli yapılan 0-18 yaş arası hasta popülasyonu oluşturdu.

5.2. Çalışmaya Dahil Olma ve Olmama Kriterleri

Çalışma süresince primer immün yetmezlik, hematolojik malignite ya da hematolojik malign olmayan hastalıklar nedeniyle allojenik HKHN yapılan ve çalışmaya katılmayı kabul eden tüm pediatrik hastalar onam alınarak çalışmaya dahil edildi. (Yaş aralığı 0-18)

AÜTF Çocuk Hastanesi genel poliklinik ve sosyal pediatri polikliniklerine başvuran yaş grubu benzer; enfeksiyon veya kronik hastalık bulgusu olmayan sağlıklı çocuklar ebeveynlerinden onam alındıktan sonra, sağlıklı kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya dahil olmama kriterleri: PİY ya da hematolojik hastalık dışı nedenlerle HKHN yapılan hastalar**,** otolog nakil yapılan hastalar

5.3. Çalışmanın Yöntemi

Belirlenen süre zarfında hematopoetik kök hücre nakli yapılan ve çalışma popülasyonunu oluşturan hastalar, nakil ünitesine alınışlarından itibaren prospektif olarak izlendi. Nakil sonrası akut GVHH gelişen hastalar ve gelişmeyen hastalar olarak ikiye ayrıldı. Benzer yaş grubundan başka nedenlerle kan alınması gereken kronik hastalık, enfeksiyon ve ilaç kullanımı öyküsü olmayan 19 sağlıklı gönüllü kontrol grubunu oluşturdu.

HLA uyumu 9/10 ve üzeri olan vericiler tam uyumlu, 8/10 ve altı olanlar tam uyumlu olmayan verici olarak tanımlandı. (MMRD)

5.4. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Allojenik HKHN yapılması planlanan hastalardan hazırlama rejimi başlanmadan , HKHN yapıldıktan sonra 7. gün ve aGVHH gelişirse aynı gün alınan 5'er cc venöz kan örnekleri 4 C⁰'de santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri ayrılarak ST2 ve Reg3α düzeylerinin çalışıldığı güne kadar -20 C⁰'de muhafaza edildi. ST-2 düzeyleri için ''Cloud Clone Corp (ABD) / SEH820Hu 96 Tests – Enzyme Linked immunsorbent assay Kit for Interleukin 1 Receptor Like Protein Organism Species: Homo Sapiens (Human)'', Reg3α düzeyleri için ''Cloud Clone Corp (ABD)/ SEE675Hu 96 Tests- Enzyme Linked Immunosorbent Assay Kit for Regenarating Islet Derived Protein 3 Alpha Organism Species: Homo Sapiens (Human) '' kitleri kullanılmıştır. Benzer yaş grubunda sağlıklı gönüllülerden alınan venöz kan örnekleri aynı yöntemle serum ayrılarak çalışma gününe kadar -20 C⁰'de saklandı.

5.5 Örneklerin çalışılması

5.5.1. ST2 Düzeyleri Ölçümü İçin ELISA Yöntemi

ST2 Kitinin içerdiği solüsyon ve materyaller

- 1 adet kullanıma hazır 96 kuyucuklu plak
- 1 adet standart solüsyon
- 1x120 µL Reaktif A ve B
- 1x9 ml TMB substratı
- 1x20 ml 30 kat konsantre edilmiş yıkama solüsyonu
- 96 kuyucuk için uygun plak örtüsü
- 1x20 ml standart dilusyon solüsyonu
- 1x12 ml assay dülusyon solüsyonu A ve B
- 1x6 ml durdurucu solüsyon

Reaktiflerin Hazırlığı

Tüm kit komponentleri çalışma öncesi oda sıcaklığına (25 C⁰) getirildi.

Standard solüsyon, 1 ml dilusyon solüsyonuyla karıştırılarak oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Hazırlanan karışımın konsantrasyonu 8000 pg/ ml'ydi. Karışım 2. tüpte dilue edilerek konsantrasyonunun 4000 pg/ml olması sağlandı. Ardından 7 adet tüpe 0.5 ml standart dilusyon solüsyonu eklendi ve dilusyon 4000, 2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5 pg/ml olacak şekilde devam ettirildi. Son tüpte 0 pg/ml kalacak şekilde sadece dilusyon solüsyonu bulunmaktaydı.

Detection A ve B reaktifleri kullanım öncesi santrifüj edildi ve dilusyon solüsyonları A ve B ile 100 kat dilue edildi.

20 ml yıkama solüsyonu, 580 ml distile suyla karıştırılarak 600 ml'lik bir yıkama solüsyonu elde edildi.

TMB substratı, sterilize pipetlere yeteri miktarda çekilerek; kullanıma hazır hale getirildi.

Test Protokolü

Kuyucuklar; dilue standart, boşluk ve örnekler için 3 gruba ayrıldı. 7 kuyucuk için, 1 adet boşluk bırakıldı. 100 µl dilue edilmiş standart solüsyonu ve örnek materyali uygun kuyucuklara yerleştirildi. Plak örtüsü ile kapatılan kuyucuklar, 1 saat 37 C⁰'de inkube edildi.

Her kuyucuktan yıkanmadan sıvılar çekildi.

Her kuyucuğa 100 µl Reaktif A eklendi ve plak örtüsü ile kapatılan kuyucuklar, 1 saat 37 C⁰'de inkube edildi.

Kuyucuklar boşaltılarak, 3 kez 350 µl yıkama solüsyonuyla yıkandı.

Her kuyucuğa 100 µl Reaktif B eklendi ve plak örtüsü ile kapatılan kuyucuklar, 1 saat 37 C⁰'de inkube edildi.

Kuyucuklar boşaltılarak, toplamda 5 kez olacak şekilde yıkama solüsyonuyla yıkandı.

90 µl substrat solüsyonu, kuyucuklara yerleştirilerek plak örtüsüyle örtüldü. 20 dakika boyunca 37 C⁰'de ışıksız ortamda inkube edildi. Kuyucuklardaki sıvı rengi mavi olduğunda diğer adıma geçildi.

50 µl durdurma solüsyonu, her kuyucuğa yerleştirildi. Sıvı rengi, sarı olduğunda diğer adıma geçildi.

Plakta herhangi bir sıvı artığı veya parmak izi olmadığı kontrol edilerek plak, mikroplak okuyucuya yerleştirildi.

5.5.2. Reg3α Düzeyleri Ölçümü İçin ELISA Yöntemi

Reg3α Kitinin içerdiği solüsyon ve materyaller

- 1 adet kullanıma hazır 96 kuyucuklu plak
- 1 adet standart solüsyon
- 1x120 µL Reaktif A ve B
- 1x9 ml TMB substratı
- 1x20 ml 30 kat konsantre edilmiş yıkama solüsyonu
- 96 kuyucuk için uygun plak örtüsü
- 1x20 ml standart dilusyon solüsyonu
- 1x12 ml assay dülusyon solüsyonu A ve B
- 1x6 ml durdurucu solüsyon

Reaktiflerin Hazırlığı

Tüm kit komponentleri çalışma öncesi oda sıcaklığına (25 C^{o}) getirildi.

Standart solüsyon, 1 ml dilusyon solüsyonuyla karıştırılarak oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Hazırlanan karışımın konsantrasyonu 200 pg/ ml'ydi. Karışım 2. tüpte dilue edilerek konsantrasyonunun 100 pg/ml olması sağlandı. Ardından 7 adet tüpe 0.5 ml standart dilusyon solüsyonu eklendi ve dilusyon 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 pg/ml olacak şekilde devam ettirildi. Son tüpte 0 pg/ml kalacak şekilde sadece dilusyon solüsyonu bulunmaktaydı.

Detection A ve B reaktifleri kullanım öncesi santrifüj edildi ve dilusyon solüsyonları A ve B ile 100 kat dilue edildi.

20 ml yıkama solüsyonu, 580 ml distile suyla karıştıralarak 600 ml'lik bir yıkama solüsyonu elde edildi.

TMB substratı, sterilize pipetlere yeteri miktarda çekilerek; kullanıma hazır hale getirildi.

Test Protokolü

Kuyucuklar; dilue standart, boşluk ve örnekler için 3 gruba ayrıldı. 7 kuyucuk için, 1 adet boşluk bırakıldı. 100 µl dilue edilmiş standart solüsyonu ve örnek materyali uygun kuyucuklara yerleştirildi. Plak örtüsü ile kapatılan kuyucuklar, 1 saat 37 C^{o}'de inkube edildi.

Her kuyucuktan yıkanmadan sıvılar çekildi.

Her kuyucuğa 100 µl Reaktif A eklendi ve plak örtüsü ile kapatılan kuyucuklar, 1 saat 37 C^{o}'de inkube edildi.

Kuyucuklar boşaltılarak, 3 kez 350 µl yıkama solüsyonuyla yıkandı.

Her kuyucuğa 100 µl Reaktif B eklendi ve plak örtüsü ile kapatılan kuyucuklar, 1 saat 37 Cº'de inkube edildi.

Kuyucuklar boşaltılarak, toplamda 5 kez olacak şekilde yıkama solüsyonuyla yıkandı.

90 µl substrat solüsyonu, kuyucuklara yerleştirilerek plak örtüsüyle örtüldü. 20 dakika boyunca 37 Cº'de ışıksız ortamda inkube edildi. Kuyucuklardaki sıvı rengi mavi olduğunda diğer adıma geçildi.

50 µl durdurma solüsyonu, her kuyucuğa yerleştirildi. Sıvı rengi, sarı olduğunda diğer adıma geçildi.

Plakta herhangi bir sıvı artığı veya parmak izi olmadığı kontrol edilerek plak, mikroplak okuyucuya yerleştirildi.

ST2 ve Reg3α Değerlerinin Okunması

Serum örnekleri mikrokuyucuklara yerleştirildikten sonra, avidin ile konjuge edilmiş Horseradish Peroxidase kuyucuklara yerleştirilerek inkube edildi. TMB solüsyonu ve sülfürik asit eklenerek ise enzim- substrat reaksiyonu oluşarak kuyucuklarda renk değişikliği saptandı. Bu renk değişikliği spektrofotometrik yöntemle dalga boyu 450 nm olacak şekilde ölçüldü. Ölçülen değerler log- log grafiğine x eğrisine optikal dansite, y eğrisine ölçülen konsantrasyonlar pg/ml cinsinden yerleştirilerek ST2/ REG3-α serum düzeyleri hesaplandı.

5.7. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizinde SPSS 11.5 programından faydalanılmıştır. Tanımlayıcı olarak nicel değişkenler için ortalama±standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum), nitel değişkenler için ise hasta sayısı (yüzde) kullanılmıştır. Nicel değişken bakımından iki kategoriye sahip nitel değişkenin kategorileri arasında fark olup olmadığına, normal dağılım varsayımları sağlanıyorsa Student-t testi, sağlanmıyorsa Mann-Whitney U testi kullanılarak bakılmıştır. Nicel değişken bakımından ikiden fazla kategoriye sahip nitel değişkenin kategorileri arasında fark olup olmadığına, normal dağılım varsayımları sağlandığı için One Way ANOVA testi kullanılarak bakılmıştır. İki nitel değişken arasındaki ilişki incelenmek istendiğinde ise Ki-kare ve Fisher-exact testleri kullanılmıştır. Nicel değişken için gold standart nitel değişken yerine kullanılabilecek bir yöntem bulmak için ise ROC analizi yapılmış ve nicel değişken için cut-off değeri hesaplamak için Youden İndeks değeri kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi 0.05 olarak alınmıştır.

Hastanın;

Adı soyadı:

Yaşı:

Tanısı:

Tanı tarihi:

Transplant tarihi:

Alıcı kan grubu:

Transplant esnasında durum:

Kök hücre kaynağı:

Periferik kök hücre Kemik iliği

Donör tipi:

MSD MRD MUD Haplo MMRD

Dönör cinsiyeti ve yaşı

Donör kan grubu:

Hazırlama rejimi:

Myeloablatif Düşük yoğunluklu Hazırlama rejimi yok:

GVHH profilaksisi:

Akut GVHH geliştiyse:

Akut GVHH saptanma günü:

Grade:

İzole cilt

İzole GIS (üst/alt)

Karaciğer

2 organdan

fazla tutulum

GVHD tedavisi:

Serum ST2 düzeyi:

0. Gün: 7. Gün: GVHH:

Serum Reg3α düzeyi

0. Gün: 7. Gün: GVHH:

Şekil 5.1. Hasta Takip Formu

6. BULGULAR

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematopoetik Kök Hücre Nakli Ünitesi'nde Ocak 2019- Ocak 2021 yılları arasında allojenik HKHN yapılan, dahil olma ve olmama kriterlerine uygun olarak seçilen 27 pediatrik hasta çalışmaya dahil edildi ve akut GVHH gelişimi prospektif olarak izlendi. HKHN yapılan 27 hasta (akut GVHH gelişen 13, gelişmeyen 14) ve 19 sağlıklı gönüllü çalışmanın örneklemini oluşturdu.

6.1. Çalışma Grubunun Genel Özellikleri

Çalışma grubunda yer alan HKHN yapılan 27 pediatrik hastanın genel özellikleri tablo 6.1'de gösterilmiştir.

Tablo 6.1: Çalışma grubundaki 27 hastanın genel özellikleri

	HKHN yapılan hastalar n (%)			
Cinsiyet	Erkek	13 (48.1)		
	Kız	14 (51.9)		
Median Yaş (Min-Maks) yıl	3.5 (0-16)			
Yaş grupları	0-2 Yaş	11 (40.7)		
	2-6 Yaş	4 (14.8)		
	6-10 Yaş	5 (18.5)		
	≥10 Yaş	7 (25.9)		
Tanı (n/%)	AKİY	6 (22.2)	T- B-	2 (7.4)
			T- B+	4 (14.8)
	AKİY dışı PİY	9 (33.3)	WAS	2 (7.4)
			KGH	1 (3.7)
			RASGRP1 gen mutasyonu	1 (3.7)
			Familyal HLH (perforin gen mutasyonu)	1 (3.7)
			DOCK-8 eksikliği	3 (11.1)
			IL10RA defekti	1 (3.7)
	Malign hematolojik hastalık	9 (33.3)	T-ALL	3 (11.1)
			B-ALL	4 (14.8)
			AML	2 (7.4)
	Malign olmayan hematolojik hastalık	3 (11.1)	Talasemi major	3 (11.1)

WAS: Wiskott Aldrich sendromu, KGH: Kronik Granülamatöz Hastalık HLH: Hemofagositik lenfohistiyositozis, ALL: Akut lenfoblastik lösemi, AML: Akut Miyeloid Lösemi, DOCK-8: Dedicator of cytokinesis 8, IL10RA: Interlökin 10 reseptör alpha subunit

27 HKHN yapılan hastanın median yaşı 3.5 yaştı (0-14). Yaş grupları olarak 4 gruba ayrılan hastaların çoğunluğunu 0-2 yaş grubundaki hastalar oluşturdu. Bu hastaların 13'ü erkek (%48.1), 14'ü kızdı (%51.9).

Hematopoetik kök hücre nakli yapılan hastaların primer tanıları 4 alt gruba ayrıldı. Primer İmmün yetmezlik nedeniyle HKHN yapılan hastalar AKİY olan ve AKİY dışı PİY'ler olarak ikiye ayrıldı. Hematolojik hastalık nedeniyle HKHN yapılan hastaların tanıları ise malign ve malign olmayan olarak iki alt başlıkta incelendi. Ağır kombine immün yetmezlik tanısıyla HKHN yapılan hastalar lenfosit alt gruplarına göre T-B- ve T- B+ olmak üzere iki alt gruba ayrıldı. Hastaların çoğunluğunu immünoloji hastalarında AKİY dışı PİY grubu (9 hasta, %33.3), hematoloji hastalarında malign hastalık grubu (9 hasta, %33.3) oluşturdu. Hematolojik malignite nedeniyle HKHN yapılan hastaların 2'si 1. komplet remisyonda, 3'ü 2. komplet remisyondaydı. HKHN anında primer hastalığı relaps olan hasta sayısı 4'tü.

Tablo 6.2'de çalışmaya dahil edilen sağlıklı kontrol grubunun özellikleri sunulmuştur.

Tablo 6.2: Sağlıklı kontrol grubunun özellikleri

	Sağlıklı Kontrol Grubu n(%)	
Cinsiyet	**Erkek**	9 (47.3)
	Kız	10 (52.7)
Yaş Median (Min-Maks)	5 yaş (1-14)	
0-2 Yaş	6 (31,6)	
2-6 Yaş	5 (26,3)	
6-10 Yaş	3 (15,8)	
≥10 Yaş	5 (26,3)	

Hematopoetik kök hücre nakline ait özellikler tablo 6.3'te sunulmuştur.

Tablo 6.3: Hematopoetik kök hücre nakline ait özellikler

			Hasta Sayısı (n/%)
Verici tipi	Akraba	MSD	6 (22.2)
		MRD	4 (14.8)
		MMRD	8 (29.6)
	Akraba dışı	MUD	9 (33.3)
Alıcı - verici cinsiyet uyumsuzluğu			17 (62.9)
Alıcı verici kan uyuşmazlığı			6 (22.3)
Transplant Esnasında Enfeksiyon		Yok	23 (85.1)
		Var	4 (14.9)
Kök Hücre Kaynağı		Kemik İliği	22 (81.4)
		Periferik Kök Hücre	5 (18.6)
Hazırlama Rejimi		Myeloablatif	13 (48.1)
		Düşük Yoğunluklu	8 (29.6)
		Hazırlama Rejimi Almayan	6 (22.2)
Akut GVHH profilaksisi		CNI	3 (11.1)
		CNI, MTX	12 (44.4)
		CNI, MMF	7 (25.9)
		PT-CY	3 (11.1)
		Profilaksi almayan	2 (7.4)
CD34 sayısı		2-5 x 10^6/kg	8 (29.6)
		5-10 x10^6/kg	10 (37)
		10-14x10^6/kg	5 (18.5)
HKHN sonrası izlem süresi (ay)		Median (Min-Maks)	15 (3-26)

CNI: Kalsinörin İnhibitörü, MTX: Metotreksat, MMF: Mikofenolat mofetil, MSD: Match sibling donor, MRD: Match related donor, MMRD (Haplo): Mismatch related donor, MUD: Match unrelated donor, PT-CY: posttransplant siklofosfamid

HKHN yapılan hastaların vericilerinin % 66.7 oranında aile içi- akraba vericiler olduğu görüldü. Tam uyumlu kardeş ve tam uyumlu aile içi vericiler % 37, doku uyumu olmayan aile içi vericiler (MMRD) (haploidantik) %29.6, akraba dışı tam uyumlu vericiler ise % 33.3 oranındaydı Alıcı verici arasındaki cinsiyet uyumsuzluğu 17 hastada (%62.9) saptandı. Alıcı verici arasında kan grubu uyuşmazlığı 6 hastada (%22.3) bulunmaktaydı.

HKHN esnasında 4 hastada (%14.9) enfeksiyon bulunmaktaydı. Bunlardan 3'ü ağır kombine immün yetmezlik tanısı alan hastalardı. Bu olgulardan 2'sine posttransplant siklofosfamidle in vivo T deplesyonu yapılarak, 1'ine CD34+ hücre seleksiyonu yapılarak haploidantik aile içi donörlerden nakil yapıldı. Hastalardan biri pnömoniye bağlı akut respiratuvar distress sendromu ile prezente olurken, diğeri CMV ensefaliti ve pnömonisi nedeniyle tedavi almaktaydı. 3. hastaya ise hazırlama rejimi verilmeden katater enfeksiyonuna bağlı sepsis nedeniyle sistemik antibiyotik tedavisi alırken annesinden tam uyumlu (MRD) nakil yapıldı. 4. Hasta akut myeloid lösemi tanısıyla takip edilen ve HKHN öncesi sol bacakta lokalize mukor enfeksiyonu olan bir hastaydı, hazırlama rejimi verilerek tam uyumlu akraba dışı nakil yapıldı.

Kök hücre kaynağı olarak hastaların 22'sinde (%81.4) kemik iliği kullanıldı. HKHN öncesi kullanılan hazırlama rejimleri myeloablatif, düşük yoğunluklu ve hazırlama rejimi almayanlar olmak üzere 3 alt grupta incelendi. HKHN öncesi olguların %48.7'sine miyeloablatif, %29.6'sına düşük yoğunluklu hazırlama rejimi verilmişken; ağır kombine immün yetmezlik tanılı 6 hastaya hazırlama rejimi verilmedi.

Akut GVHH profilaksisi olarak hastalara tek başına kalsinörin inhibitörü (CNI) ya da CNI yanında ikinci bir ajan (metotreksat veya mikofenolat mofetil) verildi. En sık kullanılan kombinasyon kalsinörin inhibitörü ve metoreksat kombinasyonu iken (12 hasta/ %44.4), 3 hasta (%11.1) posttransplant siklofosfamid (PT-CY) aldı.

HKHN yapılan hastalarda nakil sonrası gelişen komplikasyonlar ve prognoz Tablo 6.4'te sunulmuştur.

Tablo 6.4: Hematopoetik kök hücre nakli yapılan hastalarda komplikasyonlar ve prognoz

		HKHN yapılan hastalar n (%)	
Komplikasyon		Akut graft versus hastalığı	13 (48.1)
		Enfeksiyon	14 (51.8)
		Engrafman Sendromu	5 (18.5)
		Hemorajik Sistit	2 (7.4)
		Serum Hastalığı	1 (3.7)
		Hemofagositik lenfohistiyositozis	1 (3.7)
		Renal toksisite	1 (3.7)
Prognoz	Hayatta kalım oranı	25 (92.6)	
	Kaybedilen	2 (7.4)	AKİY tanılı 1 hasta CMV ve PCP pnömonisi, aGVHH
			DOCK-8 tanılı bir hasta akut pankreatit, sepsis, grade 3 akut GIS GVHH
Myeloid engrafman(gün)	Median (Min-Maks)	15 (11-28)	
Trombosit engrafmanı (gün)	Median (Min-Maks)	22 (13-46)	

HKHN sonrası gelişen komplikasyonlara bakıldığında ilk sırada 14 hastada gelişen enfeksiyonun, ikinci sırada ise 13 hastada (%48.1) görülen akut graft versus host hastalığının yer aldığı izlendi. Engrafman sendromu 5 olguda izlenirken, HKHN sonrası ciddi komplikasyonlardan biri olan sinuzoidal obstruksiyon sendromu hiçbir vakada görülmedi.

Engrafman sürelerine bakıldığında; myeloid engrafman gelişme süresi median 15 gün (11-28), trombosit engrafmanı gelişme süresi median 22 gündü. (13-46) Hastaların nakil sonrası median izlem süresi 15 aydı. (3-26)

HKHN sonrası gelişen akut graft versus host hastalığının özellikleri Tablo 6.5'te gösterilmektedir.

Tablo 6.5: Akut graft versus host hastalığı gelişen hastaların özellikleri

	Hasta Özellikleri	
aGVHH Tipi, n(%)	Cilt	8 (61,5)
	GİS	2 (15,4)
	Cilt ve GİS	3 (23,1)
Akut GVHH Grade, n(%)	Grade 0	1 (7.6)
	Grade 1-2	9 (69.2)
	Grade 3-4	3 (23.2)
Akut Cilt GVHH (gün)	Ort.±SS	23,00±11,74
	Median (Min.-Maks.)	27,00 (4,00-37,00)
Akut GİS GVHH (gün)	Ort.±SS	64,00±20,12
	Median (Min.-Maks.)	75,00 (37,00-81,00)
Tedavi n(%)	Metilprednizolon	13 (100)
	İkinci basamak tedavi gereksinimi	8 (61.5)

Akut graft versus host hastalığı gelişen hastaların 8'inde (%61.5) cilt, 2'sinde (%15.4) gastrointestinal sistem, 3'ünde (%23.1) hem cilt hem GIS GVHH'si gelişti. Hastaların çoğunda (9 hasta/%69.2) grade 1-2 akut GVHH gelişirken, sadece 3 hastada (%23.2) grade 3-4 akut GVHH gelişimi izlendi. Median cilt GVHH'si gelişme günü 27 (4-37), median GIS GVHH'si gelişme günü 75 gündü. (37-81)

Akut GVHH gelişen hastaların tümüne GVHH geliştiği gün metilprednizolon tedavisi başlandı. Bu hastalardan 8'inde (%61.5) MPZ tedavisine yanıt alınamadığından dolayı tedaviye ikinci basamak tedavi ajanlarından biri veya birkaçı eklendi. İkinci basamak tedavide mikofenolat mofetil, siklosporin, ruksolitinib, blinutumab, tosiluzumab ve mezenkimal kök hücre infüzyonu kullanıldı.

6.2. Akut GVHH Gelişen, Gelişmeyen Olgulara Ait Genel Özelliklerin Karşılaştırılması

HKHN sonrası aGVHH gelişen ve gelişmeyen olguların genel özellikleri Tablo 6.6'da sunulmaktadır. İki grup arasında yaş, cinsiyeti tanı açısından istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. ($p>0.05$)

Tablo 6.6: Akut GVHH gelişen ve gelişmeyen grupların genel özellikleri

		GVHH gelişen n(%)	**GVHH gelişmeyen n(%)**	p değeri
Yaş median yıl (Min- Maks)		3.5 (0.6-14)	3.5 (0-16)	1,000
Yaş grupları	0-2 Yaş	5 (38,4)	6 (42,9)	0,820[b]
	2-6 Yaş	3 (23,1)	1 (7,1)	
	6-10 Yaş	(15,4)	3 (21,4)	
	≥10 Yaş	3 (23,1)	4 (28,6)	
Cinsiyet	Erkek	7 (53,8)	6 (42,9)	0,568[a]
	Kız	6 (46,2)	8 (57,1)	
Tanı	AKİY	3 (23,1)	3 (21,4)	1,000[b]
	AKİY dışı PİY	4 (30,8)	5 (35,7)	
	Malign hematolojik hastalık	5 (38,4)	4 (28,6)	
	Hematolojik malign olmayan hastalık	1 (7,7)	2 (14,3)	

a:Ki-kare tesi, b:Fisher-exact testi, c:Student-t testi, d:Mann-Whitney U testi, Ort:Ortalama, SS:Standart sapma, Min:Minimum, Maks:Maksimum

Tablo 6.7'de HKHN yapılan olguların verici tipleri, tablo 6.8'de hematopoetik kök hücre nakline ait risk faktörlerinin akut GVHH gelişen ve gelişmeyen gruplardaki özellikleri sunulmuştur.

Tablo 6.7: HKHN yapılan olguların verici özellikleri

	Donör tipi			
	MSD	MRD	MMRD	MUD
GVHH gelişen n (%)	1 (7.7)	1 (7.7)	7 (53.8)	4 (30.8)
GVHH gelişmeyen n (%)	5 (35.7)	3 (21.4)	1 (7.1)	5 (35.7)
p değeri	0,165[a]	0,596[a]	**0,013[a]**	1,000[a]

a:Fisher-exact testi MSD: Match sibling donor, MRD: Match related donor, MMRD (Haplo): Mismatch related donor, MUD: Match unrelated donor

Akut GVHH gelişen hastaların 7'sinin (%53.8) vericilerinin MMRD (haploidantik) olduğu görüldü. GVVH gelişmeyen grupta ise sadece bir verici MMRD idi. GVHH gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında vericinin MMRD olması GVHH gelişimi açısından istatiksel olarak anlamlı bulundu (p=0.013).

Tablo 6.8: HKHN yapılan olgularda diğer risk faktörleri

		GVHH Gelişen n(%)	**GVHH Gelişmeyen n(%)**	**p değeri**
Alıcı- Verici cinsiyet Uyumsuzluğu	Uyumsuz	9 (69,2)	8 (57,1)	0,695[b]
	Uyumlu	4 (30,8)	6 (42,9)	
Alıcı Verici Kan Grubu Uyuşmazlığı	Uyuşuyor	10 (76,9)	11 (78,6)	1,000[b]
	Uyuşmuyor	3 (23,1)	3 (21,4)	
Transplant Esnasında Enfeksiyon	Yok	11 (84.7)	12 (85.8)	1,000[a]
	Var	2 (15.3)	2 (14.2)	
Kök hücre kaynağı n(%)	Kemik İliği	10 (76,9)	12 (85,7)	0,648[b]
	Periferik Kök Hücre	3 (23,1)	2 (14,3)	
Hazırlama Rejimi	Myeloablatif	6 (46.2)	7 (50)	1,000[b]
	Düşük Yoğunluklu	4 (30.7)	4 (28.5)	
	Almayan	3 (23.1)	3 (21.5)	
HLA uyumu	Tam Uyumlu	6 (46.2)	13 (92.8)	**0,033[a]**
	Tam Uyumlu Olmayan	7 (53.8)	1 (7.2)	
GVHH profilaksisi	CNI	1 (7.1)	2 (14.2)	0,857[b]
	CNI, MTX	5 (35.7)	7 (50.0)	
	CNI, MMF	4 (28.5)	3 (21.4)	
	Posttransplant siklofosfamid	3 (21.4)	0 (0.00)	
	Profilaksi almayan	1 (7.1)	2 (14.2)	
CD34 sayısı	2-5 x 10^6/kg	(25,0)	5 (45,5)	0,086[a]
	5-10 x10^6/kg	8 (66,7)	2 (18,2)	
	10-14x10^6/kg	1 (8,3)	4 (36,3)	

CNI: Kalsinörin İnhibitörü, MTX: Metotreksat, MMF: Mikofenolat mofetil, MSD: Match sibling donor, MRD: Match related donor, MMRD (Haplo): Mismatch related donor, MUD: Match unrelated donor
a:Ki-kare tesi, b:Fisher-exact testi, c:Student-t testi, d:Mann-Whitney U testi, Ort:Ortalama, SS:Standart sapma, Min:Minimum, Maks:Maksimum

Alıcı-verici cinsiyet uyumsuzluğu, alıcı verici kan grubu uyuşmazlığı, transplant esnasındaki enfeksiyon durumu, kök hücre kaynağı, hazırlama rejimi, GVHH profilaksisi ve verilen CD34 sayısı açısından iki grup arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0.05). GVHH profilaksisi açısından bakıldığında posttransplant siklofosfamid alan tüm olgularda akut GVHH geliştiği; ancak diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı. Bu hastaların birinde akut grade 1-2 cilt, akut GIS GVHH'si ise grade 3 olarak izlenirken; diğer iki hastada akut cilt GVHH'si grade 1-2 olarak izlendi.

Tablo 6.9'da akut GVHH gelişen ve gelişmeyen gruplarda akut GVHH dışında diğer komplikasyonlar, myeloid/ trombosit engrafman süreleri, prognoz ve HKHN sonrası izlem süreleri sunulmuştur.

Tablo 6.9: Akut GVHH gelişen ve gelişmeyen gruplarda akut GVHH dışında diğer komplikasyonlar, myeloid/ trombosit engrafman süreleri, prognoz ve HKHN sonrası izlem süreleri

		GVHH Gelişen n(%)	**GVHH Gelişmeyen n(%)**	**p değeri**
Komplikasyon	Enfeksiyon	6 (46,2)	8 (57,1)	0,091[b]
	Engrafman Sendromu	5 (38,4)	0 (0,0)	
	Hemorajik Sistit	1 (7,7)	1 (7,1)	
	Serum Hastalığı	0 (0,0)	1 (7,1)	
	Hemofagositik lenfohistiyositozis	0 (0,0)	1 (7,1)	
	Renal toksisite	0(0,0)	1 (7,1)	
Myeloid Engrafmanı	Ort.±SS	14,92±1,85	16,08±4,25	0,509[d]
	Median (Min.-Maks.)	15,50 (13,00-18,00)	16,00 (11,00-28,00)	
Trombosit Engrafmanı	Ort.±SS	23,89±6,33	23,15±9,75	0,845[c]
	Median (Min.-Maks.)	26,00 (13,00-31,00)	19,00 (13,00-46,00)	
Prognoz	Kaybedilen	2 (15,4)	0 (0,0)	0,222[b]
	Hayatta kalma oranı	11 (84,6)	14 (100,0)	
HKHN Sonrası İzlem Süresi (ay)	Ort.±SS	14,27±5,98	14,43±5,97	0,949[c]
	Median (Min.-Maks.)	16,00 (3,00-21,00)	14,00 (5,00-26,00)	

a:Ki-kare tesi, b:Fisher-exact testi, c:Student-t testi, d:Mann-Whitney U testi, Ort:Ortalama, SS:Standart sapma, Min:Minimum, Maks:Maksimum

Çalışma grubunda yer alan olgulardan PİY tanılı iki olgu nakil sonrasında kaybedildi. Bu hastalardan birincisi 10 yaşında DOCK- 8 eksikliği tanılı bir kız hastaydı. HLA uyumu 8/10 olan babasından (MMRD) posttransplant siklofosfamid uygulanarak nakil yapıldı. Nakil sonrası 4. günde grade 2 akut cilt GVHH'si, nakil sonrası 75. Günde grade 2-3 akut GIS GVHH'si gelişti. Tedavide metilprednizolon yanıtsızlığı olması üzerine tedaviye mezenkimal kök hücre infüzyonları, MMF, budenofalk ve tociluzumab eklendi. Hasta izleminde akut pankreatit, sepsis ve akut grade 2-3 GIS GVHH'si nedeniyle kaybedildi. İkinci hasta ise 6 aylık T- B+ NK- AKİY tanılı kız hastaydı. HLA uyumu 5/10 olan babadan (MMRD) nakil yapılan hastanın tanı anında ve nakil esnasında CMV viremisi, CMV/ *Pneumocystis jirovecii* pnömonisi ve CMV ensefaliti mevcut olup; nakil sonrası 30. gününde grade 1 cilt GVHH'si gelişti. Tedavide metilprednizolonun yanısıra CSA ve MMF kullanılmış olup, hasta CMV pnömonisine bağlı akut solunum yetmezliği nedeniyle kaybedildi.

Akut GVHH gelişen ve gelişmeyen grup; arasında akut GVHH haricinde komplikasyon, myeloid/ trombosit engrafman süreleri, prognoz ve HKHN sonrası izlem süreleri açısından karşılaştırma yapılmış olup; istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0.05).

6.3. HKHN Yapılan Olguların ve Sağlıklı Kontrol Grubunun ST2 ve Reg3α Düzeyleri

Tablo 6.10'da HKHN yapılan olguların HKHN yapılmadan önce, HKHN yapıldıktan sonra +7. gündeki ST2 ve Reg3α düzeyleriyle, sağlıklı kontrol grubunun ST2 ve Reg3α düzeyleri sunulmuştur.

Tablo 6.10: HKHN yapılan olguların ve sağlıklı kontrol grubunun ST2 ve Reg3α düzeyleri

		HKHN yapılan hastalar (n=27)	**Sağlıklı Kontrol grubu (n=19)**	p değeri
ST2 nakil öncesi (pg/ml)	Ort.±SS	896.67±530.37	245.58±79.50228,00 (152.00-440.00)	**p<0.05** [b]
	Median (Min.-Maks.)	934.5 (182-2003)		
ST2 7. gün (pg/ml)	Ort.±SS	720.165 ±425.38		**P<0.05** [b]
	Median (Min.-Maks.)	717.25 (102-1849)		
Reg3α Nakil Öncesi (pg/ml)	Ort.±SS	242.07±68.53	245,25±53,06 262,00 (128,00-349,20)	1,000 [b]
	Median (Min.-Maks.)	219.875 (148.5-436.5)		
Reg3α 7 .gün (pg/ml)	Ort.±SS	236.835 ± 56		1,000 [b]
	Median (Min.-Maks.)	227.5 (157- 358.5)		

a:Fisher-exact testi, b:One Way ANOVA testi, Ort:Ortalama, SS:Standart sapma, Min:Minimum, Maks:Maksimum

ST2 nakil öncesi ve 7. gün düzeyleri HKHN yapılan olgularda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. (p<0.05). Reg3α nakil öncesi ve 7. gün düzeyleri açısından bu iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı (p=1.000).

Tablo 6.11'de akut GVHH gelişen ve gelişmeyen hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda ST2 ve Reg3α düzeyleri sunulmuştur.

Tablo 6.11: GVHH gelişen ve GVHH gelişmeyen hastaların nakil öncesi/ 7. gün ve sağlıklı Kontrol Grubunun ST2 ve Reg3α düzeyleri

		GVHH Gelişen	**GVHH Gelişmeyen**	**Sağlıklı Kontrol**	**p değeri**
ST2 Nakil Öncesi (pg/ml)	Ort.±SS	961,77±497,16	831,57±563,58	245,58±79,50	**<0,001[b]**
	Median (Min.-Maks.)	1089,00 (205,00-1796,00)	780,00 (182,00-2003,00)	228,00 (152,00-440,00)	
Reg3α Nakil Öncesi (pg/ml)	Ort.±SS	249,46±56,31	234,68±80,75	245,25±53,06	0,820[b]
	Median (Min.-Maks.)	232,00 (148,50-371,00)	207,75 (148,50-436,50)	262,00 (128,00-349,20)	
ST2 7. Gün (pg/ml)	Ort.±SS	684,83±293,98	755,50±556,78	245,58±79,50	**<0,05[b]**
	Median (Min.-Maks.)	722,50 (294,00-1117,00)	712,00 (102,00-1849,00)	228,00 (152,00-440,00)	
Reg3α 7. gün (pg/ml)	Ort.±SS	237,67±48,51	236,00±63,49	245,25±53,06	0,620[b]
	Median (Min.-Maks.)	239,75 (162,50-353,50)	215,25 (157,00-358,50)	262,00 (128,00-349,20)	

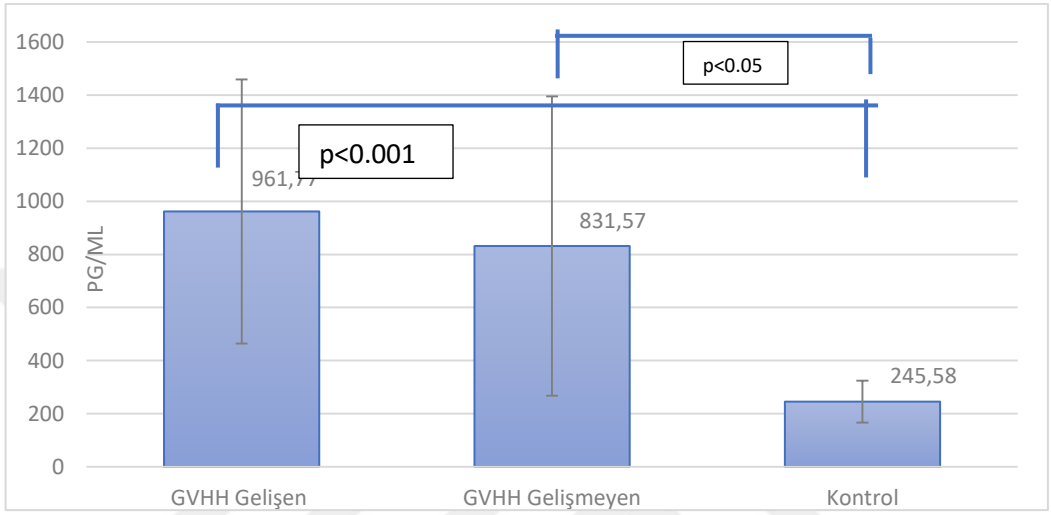
a: Fisher-exact testi, b: One Way ANOVA testi, Ort: Ortalama, SS: Standart sapma, Min: Minimum, Maks: Maksimum

Nakil öncesi ölçülen ST2 düzeyleri GVHH gelişen, GVHH gelişmeyen ve sağlıklı kontrol grubu arasında karşılaştırıldı ve nakil öncesi ST2 düzeyleri bakımından; GVHH gelişen/ gelişmeyen ve sağlıklı kontrol grubu arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulundu. (p<0,001). Nakil öncesi ölçülen ST2 düzeyleri GVHH gelişen grupta sayısal olarak yüksek olsa da; GVHH gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında nakil öncesi ST2 düzeyleri bakımından istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. (p=0.684)

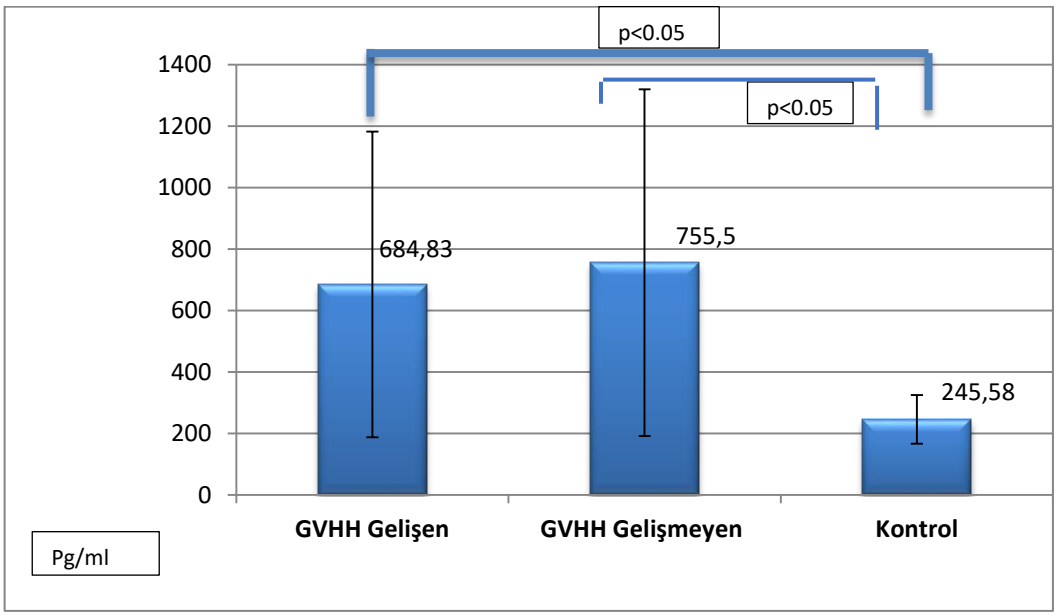
7. gün ölçülen ST2 düzeyleri GVHH gelişen, GVHH gelişmeyen ve sağlıklı kontrol grubu arasında karşılaştırıldı. 7. gün ST2 düzeyleri açısından GVHH gelişen/ gelişmeyen ve sağlıklı kontrol grubu arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulundu. (p<0,05). GVHH gelişen ve GVHH gelişmeyen gruplar arasında ise istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. (p>0.05)

Nakil öncesi ve +7. gün Reg3α düzeyleri açısından GVHH gelişen, HKHN yapılıp GVHH gelişmeyen ve sağlıklı kontrol grupları arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

ST2 nakil öncesi ve ST2 7. gün düzeylerinin her 3 grup arasındaki karşılaştırılması şekil 6.1 ve şekil 6.2'de şematize edilmiştir.



Şekil 6.1: Nakil öncesi ST2 düzeylerinin GVHH gelişen, GVHH gelişmeyen ve sağlıklı kontrol grupları arasında karşılaştırılması



Şekil 6.2: ST2 +7. gün düzeylerinin her 3 grup arasında karşılaştırılması ($p<0.05$)

Tablo 6.12'de akut cilt ve/ veya akut GIS GVHH'si gelişen olgulardan akut GVHH geliştiği gün alınan serum örneklerindeki ST2 ve Reg3α düzeyleriyle birlikte sağlıklı kontrol grubunun ST2 ve Reg3α düzeyleri sunulmuştur.

Tablo: 6.12: Akut GVHH gelişen hastalardan GVHH geliştiği gün alınan serum örneklerindeki ST2 ve Reg3α düzeyleri/ Sağlıklı kontrol grubunun ST2 ve Reg3α düzeyleri

		GVHH gelişen hastalar (n=13)	**Cilt GVHH**	**GIS GVHH**	**Sağlıklı Kontrol Grubu (n=19)**	**P değeri**
ST2 GVHH (pg/ml)	Ort.±SS	1101,835± 812.225	1028,67±742,71	1175,00±881,74	245,58±79,50	**P<0.001[b]**
	Median (Min.-Maks.)	970 (130-2347)	775,00 (174,00-2347,00)	1165,50 (130,00-2239,00)	228,00 (152,00-440,00)	
Reg3α GVHH (pg/ml)	Ort.±SS	277,795± 63.19	277,46±86,17	278,13±40,21	245,25±53,06	p>0.05[b]
	Median (Min.-Maks.)	266.5 (144,00-469,00)	256,00 (144,00-469,00)	277,00 (236,00-322,50)	262,00 (128,00-349,20)	

a:Fisher-exact testi, b:One Way ANOVA testi, Ort:Ortalama, SS:Standart sapma, Min:Minimum, Maks:Maksimum

Akut GVHH gelişen olgulardan GVHH geliştiği gün alınan örneklerdeki ST2 düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna göre istatiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. (p<0.001) Akut cilt ve akut GİS GVHH'si geliştiği günlerde olgulardan alınan örneklerinin ST2düzeyleri arasında bu iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. (p>0.05). 3 grup arasında yapılan karşılaştırmada GVHH geliştiği günlerde olgulardan alınan örneklerdeki Reg3α düzeyleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p>0.05)

Tablo 6.13'te GVHH gelişen, GVHH gelişmeyen ve sağlıklı kontrol grubundan alınan örneklerdeki ST2 düzeyleri sunulmuştur.

Tablo 6.13: GVHH gelişen, GVHH gelişmeyen ve sağlıklı kontrol grubundan alınan örneklerdeki ST2 düzeyleri

ST2 (pg/ml)		**Nakil Öncesi**	**7. gün**	**aGVHH geliştiği gün**
GVHH Gelişen (n=13)	Ort.±SS	961,77±497,16	684,83±293,98	1101,835± 812.225
	Median (Min.-Maks.)	1089,00 (205,00-1796,00)	722,50 (294,00-1117,00)	970 (130-2347)
GVHH Gelişmeyen (n=14)	Ort.±SS	831,57±563,58	755,50±556,78	-
	Median (Min.-Maks.)	780,00 (182,00-2003,00)	712,00 (102,00-1849,00)	-
Sağlıklı Kontrol Grubu (n=19)	Ort.±SS	245,58±79,50	-	-
	Median (Min.-Maks.)	228,00 (152,00-440,00)	-	-

Tablo 6.14'te Nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeylerinin HKHN yapılan 27 hastada tanılara göre değerleri sunulmuştur.

Tablo 6.14: Nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeylerinin HKHN yapılan 27 hastada tanılara göre değerleri

HKHN yapılan olgular (n=27)	**Nakil öncesi ST2 (pg/ml)**			**ST2 7. Gün (pg/ml)**		
	Ort.±SS	**Median (Min.-Maks.)**	**p değeri**	**Ort.±SS**	**Median (Min.-Maks.)**	**p değeri**
Primer İmmun Yetmezlik (n=15)	1044,33±572,68	1089,00 (238,00-2003,00)	0,103	863,71±442,80	911,50 (193,00-1849,00)	0,067
Hematolojik Hastalık (n=12)	706,67±410,97	691,50 (182,00-1265,00)		558,58±411,48	434,50 (102,00-1496,00)	

HKHN yapılan 27 hastanın nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeyleri açısından primer immün yetmezlik ve hematalojik hastalıklar arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo 6.15'te nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeylerinin hastalık alt gruplarına ait değerleri sunulmuştur.

Tablo 6.15: Nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeylerinin HKHN yapılan 27 hastada hastalık alt gruplarına ait değerleri

HKHN yapılan olgular (n=27)	ST2 Nakil Öncesi (pg/ml)			ST2 7. Gün (pg/ml)		
	Ort.±SS	**Median (Min.-Maks.)**	**p değeri**	**Ort.±SS**	**Median (Min.-Maks.)**	**p değeri**
AKİY (n=6)	869,33±519,86	900,00 (287,00-1426,00)	0,253	657,60±356,70	644,00 (296,00-1199,00)	0,116
AKİY dışı PİY (n=9)	1161,00±605,60	1326,00 (238,00-2003,00)		978,22±462,28	1017,00 (193,00-1849,00)	
Malign Hastalık (n=9)	756,78±434,82	789,00 (205,00-1265,00)		635,89±442,16	661,00 (102,00-1496,00)	
Malign Olmayan Hematolojik Hastalık (n=3)	556,33±356,99	594,00 (182,00-893,00)		326,67±204,10	220,00 (198,00-562,00)	

HKHN yapılan 27 hastanın nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeyleri açısından AKİY dışı PİY grubunda diğer gruplara göre yükseklik saptandı; fakat istatiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0.05).

Tablo 6.16'da nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeylerinin GVHH gelişen 13 hastada tanılara göre değerleri sunulmuştur.

Tablo 6.16: Nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeylerinin GVHH Gelişen 13 hastada primer immun yetmezlik ve hematolojik hastalıklara ait değerieri

GVHH gelişen olgular (n=13)	ST2 Nakil Öncesi (pg/ml)			ST2 7. Gün (pg/ml)		
	Ort.±SS	**Median (Min.-Maks.)**	**p değeri**	**Ort.±SS**	**Median (Min.-Maks.)**	**p değeri**
Primer İmmun Yetmezlik (n=7)	1101,57±557,60	1326 (291,00-1796,00)	0,393	741,83±319,40	888,00 (296,00-1117,00)	0,399
Hematolojik Hastalık (n=6)	798,60±400,99	893,00 (205,00-1238,00)		627,83±283,41	801,00 (294,00-941,00)	

GVHH gelişen 13 hastanın nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeyleri açısından primer immün yetmezlik ve hematalojik hastalıklar arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0.05).

Tablo 6.17'de nakil öncesi ve +7. Gün ölçülen ST2 düzeylerinin GVHH gelişen 13 hastada hastalık alt gruplarına ait değerleri sunulmuştur.

Tablo 6.17: Nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeylerinin GVHH gelişen 13 hastada hastalık alt gruplarına ait değerleri

GVHH gelişen olgular (n=13)	**ST2 Nakil Öncesi (pg/ml)**			**ST2 7. Gün (pg/ml)**		
	Ort.±SS	**Median (Min.-Maks.)**	**p değeri**	**Ort.±SS**	**Median (Min.-Maks.)**	**p değeri**
AKİY (n=3)	930,6±577,02	1089 (291,00-1412,00)	0,523	470,00±246,07	470,00 (296,00-644,00)	0,355
AKİY dışı PİY (n=4)	1229,75±590,58	1326,00 (400,00-1796,00)		877,75±275,60	952,50 (489,00-1117,00)	
Malign Hastalık (n=5)	779,80±445,33	789,00 (205,00-1238,00)		641,00±314,80	801,00 (294,00-941,00)	
Malign Olmayan Hematolojik Hastalık (n=1)	893,00±-	893,00 (893,00-893,00)		562,00±-	562,00 (562,00-562,00)	

GVHH gelişen 13 hastanın nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeyleri açısından AKİY dışı PİY grubunda gruplara göre yükseklik saptandı; ancak istatiksel olarak anlamlı bulunmadı. (p>0.05)

Tablo 6.18'de HKHN yapılan 27 hastanın, tablo 6.19'da GVHH gelişen 13 hastanın hazırlama rejimlerine göre nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeyleri sunulmuştur.

Tablo 6.18: HKHN yapılan 27 hastanın hazırlama rejimlerine göre nakil öncesi ve +7. Gün ölçülen ST2 düzeyleri

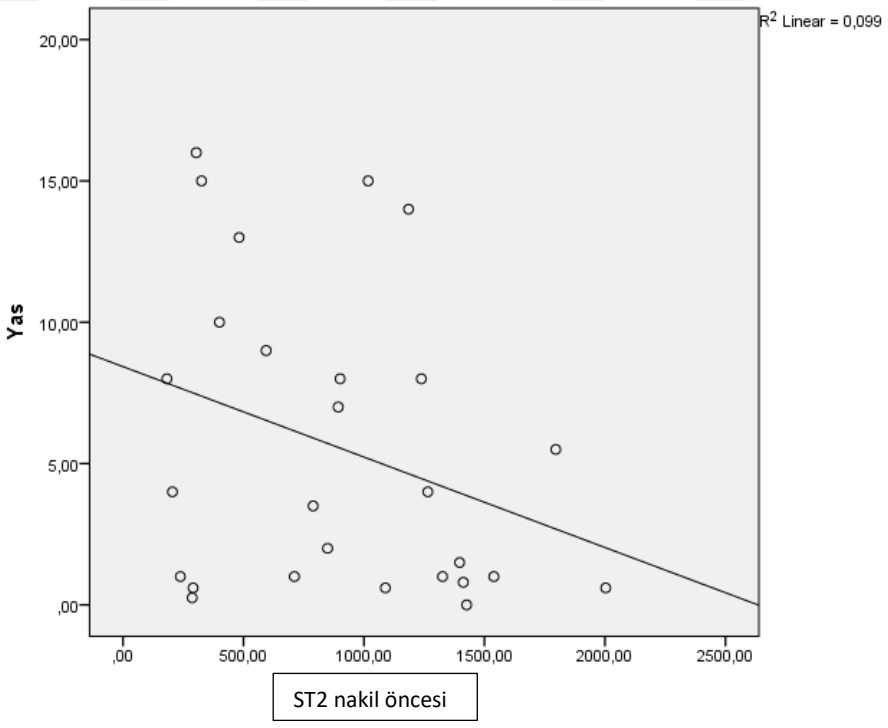
Hazırlama Rejimi HKHN yapılan olgular (n=27)	**ST2 Nakil Öncesi**			**ST2 7. gün**		
	Ort.±SS	**Median (Min.-Maks.)**	**p değeri**	**Ort.±SS**	**Median (Min.-Maks.)**	**p değeri**
Hazırlama rejimi almayan (n=6)	869,33±519,86	900,00 (287,00-1426,00)	0,493	657,60±356,70	644,00 (296,00-1199,00)	0,355
Myeloablatif (n=13)	806,38±533,00	789,00 (182,00-2003,00)		657,85±532,26	562,00 (102,00-1849,00)	
Düşük yoğunluklu (n=8)	1055,75±552,45	1113,50 (238,00-1796,00)		869,38±349,81	976,00 (193,00-1160,00)	

Tablo 6.19: GVHH gelişen 13 hastanın hazırlama rejimlerine göre nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeyleri

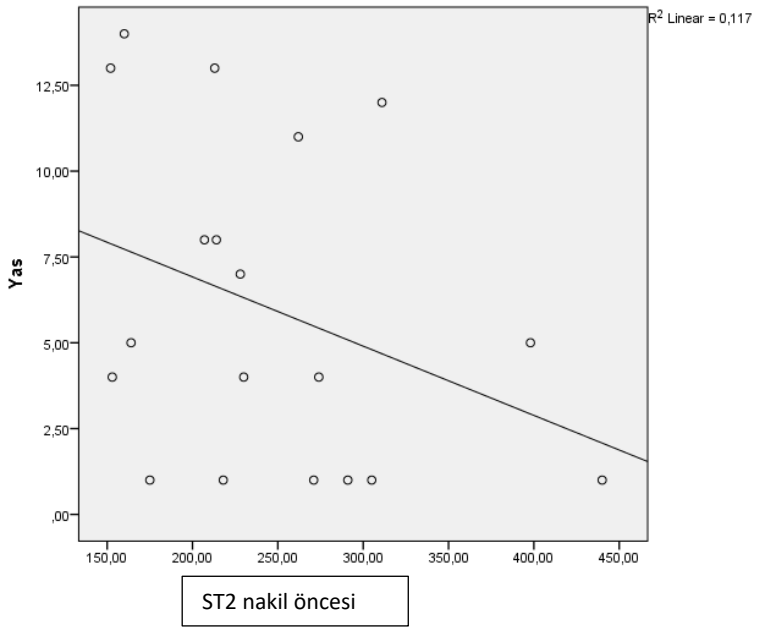
Hazırlama Rejimi/ GVHH gelişen olgular (n=13)	ST2 Nakil Öncesi			ST2 7. gün		
	Ort.±SS	Median (Min.-Maks.)	p değeri	Ort.±SS	Median (Min.-Maks.)	p değeri
Hazırlama Rejimi Almayan (n=3)	930,67±577,03	1089,00 (291,00-1412,00)	0,329	470,00±246,07	470,00 (296,00-644,00)	0,201
Myeloablatif (n=6)	798,67±400,99	841,00 (205,00-1238,00)		627,83±283,41	681,50 (294,00-941,00)	
Düşük yoğunluklu (n=4)	1229,75±590,58	1361,50 (400,00-1796,00)		877,75±275,60	952,50 (489,00-1117,00)	

Nakil öncesi ve nakil sonrası +7. gün ölçülen ST2 düzeyleri açısından hazırlama rejimi almayan, myeloablatif hazırlama rejimi alan ve düşük yoğunluklu hazırlama rejimi alan hastalar arasında istatiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p>0.05)

Şekil 6.3 ve şekil 6.4'te nakil öncesi ölçülen ST2 düzeylerinin yaşa göre değişim grafikleri sunulmuştur.



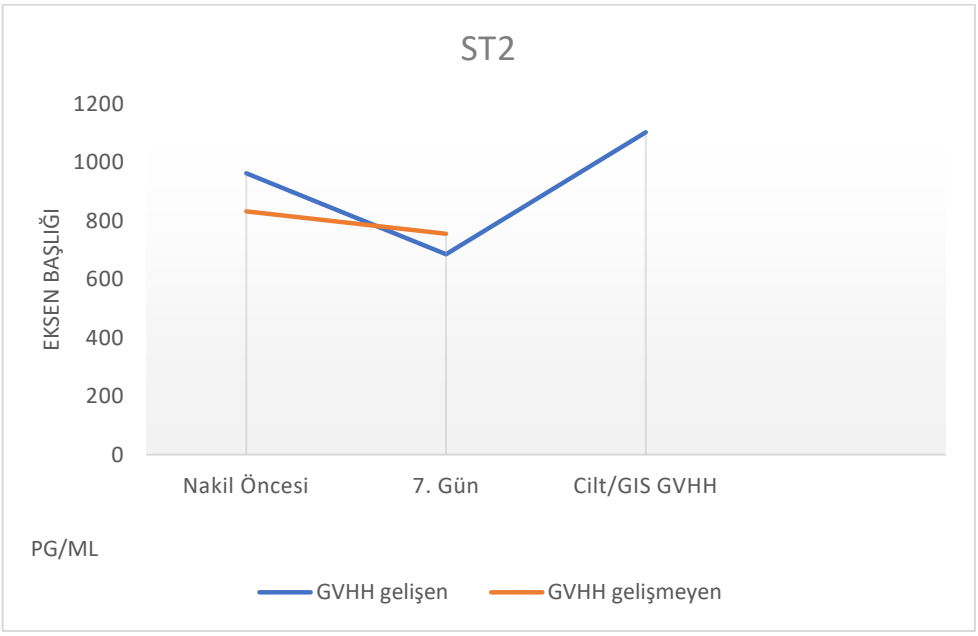
Şekil 6.3: HKHN yapılan 27 hastanın nakil öncesi ölçülen ST2 düzeylerinin yaşa göre değişim grafiği



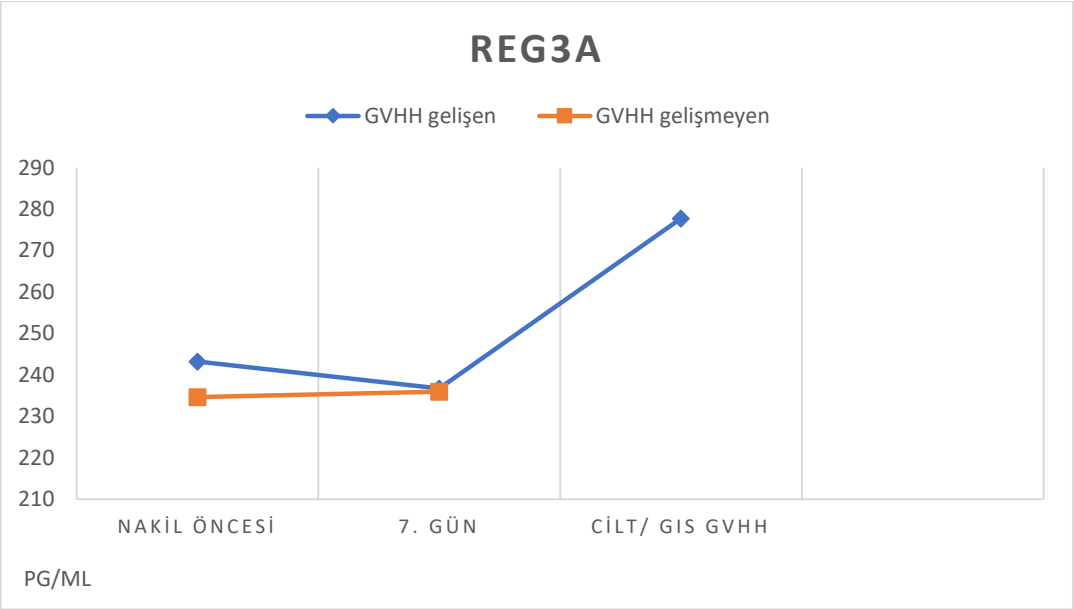
Şekil 6.4: Sağlıklı kontrol grubunda ST2 düzeylerinin yaşa göre değişim grafiği

Nakil öncesi alınan örneklerdeki ST2 düzeylerinin yaşla korelasyonuna bakıldığında; nakil yapılan 27 hastada ve sağlıklı kontrol grubunu oluşturan 19 olguda yaş azaldıkça ST2 düzeylerinin arttığı gözlendi.

Şekil 6.5 ve şekil 6.6'da GVHH gelişen ve gelişmeyen hastalardaki ST2 ve Reg3α düzeylerinin yükseliş trendine bakıldı.

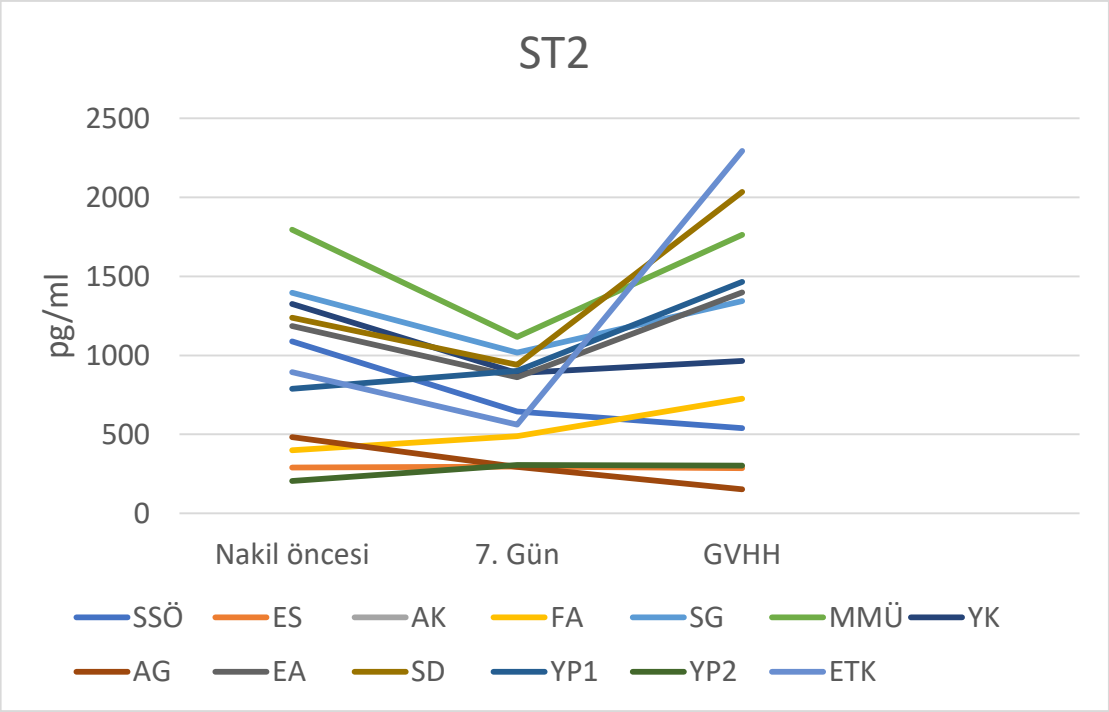


Şekil 6.5: GVHH gelişen ve gelişmeyen hastalardan alınan örneklerdeki ST2 düzeyleri

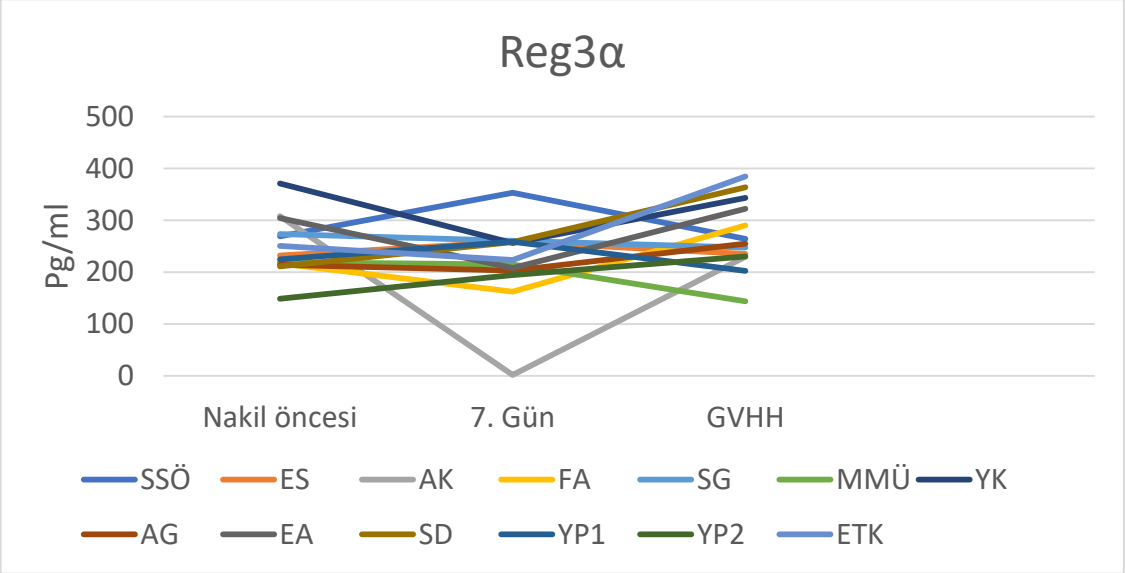


Şekil 6.6: GVHH gelişen ve gelişmeyen hastalardan alınan örneklerdeki Reg3α düzeyleri

Şekil 6.7 ve şekil 6.8'de akut GVHH gelişen 13 hastadan alınan örneklerdeki ST2 ve Reg3α düzeyleri her hasta için ayrı ayrı gösterilmiştir.



Şekil 6.7: Akut GVHH gelişen 13 hastanın ST2 düzeyleri



Şekil 6.8: Akut GVHH gelişen 13 hastanın Reg3α düzeyleri

Tablo 6.20'de akut GVHH tedavisinde steroid direnci gelişen hastalara ait ROC analizi sonuçları sunulmuştur.

Tablo 6.20: Steroid direnci gelişen hastalarda ST2 ve Reg3α düzeylerine ait ROC analizi sonuçları

				95% Güven Aralığı				
Değişkenler	**Alan**	**Standart Hata**	**p değeri**	**Alt Sınır**	**Üst Sınır**	**Duyarlılık**	**Seçicilik**	**Cut-off Değeri (pg/ml)**
ST2 Nakil Öncesi	0,700	0,251	**0,439**	0,208	1,000	0,500	1,000	**248,00**
ST2 7	0,600	0,232	**0,699**	0,145	1,000	0,500	0,800	**681,50**
ST2 Cilt GVHH	0,600	0,232	**0,699**	0,145	1,000	0,500	0,800	**1215,00**
ST2 GİS GVHH	-	-	-	-	-	-	-	-
Reg3α Nakil Öncesi	0,800	0,195	**0,245**	0,418	1,000	0,500	1,000	**181,25**
Reg3α 7	0,500	0,266	**1,000**	0,000	1,000	0,500	0,800	**257,25**
Reg3 α Cilt GVHH	1,000	0,001	**0,053**	1,000	1,000	1,000	1,000	**232,75**
Reg3 α GİS GVHH	-	-	-	-	-	-	-	-

Steroid direnci nedeniyle ikinci basamak tedavi gereksinimi olan akut GVHH gelişen hastalarda ROC analizi yapılarak ST2 ve Reg3α cut-off değerleri belirlendi. ST2 GIS GVHH ve Reg3 α GİS GVHH değişkenleri için GIS GVHH'si gelişen hasta sayısı az olduğundan cut-off değeri hesaplanamadı. Hiçbir nicel değişken için p değeri anlamlı bulunmadı (p>0,05).

7. TARTIŞMA

Bu çalışmada Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematopoetik Kök Hücre Nakli Ünitesi'nde primer immün yetmezlik ve hematolojik hastalık tanısıyla, Ocak 2019- Ocak 2021 tarihleri arasında allojenik HKHN yapılan 27 hasta prospektif olarak izlendi. Çalışmamızın amacı, allojenik HKHN yapılan pediatrik yaş grubunda akut graft versus host hastalığı klinik bulguları gelişmeden önce serumda yükselen, tedavi yanıtını ve transplant ilişkili mortaliteyi öngörebilen bir biyomarkır bulabilmekti. Bu amaçla yetişkin yaş grubunda çokça çalışılmış iki biyomarkır ST2 ve Reg3α aday biyomarkırlar olarak seçildi.

Akut graft versus host hastalığı, allojenik kök hücre nakli sonrası görülen en ciddi komplikasyonlardandır. HKHN yapılan hastaların %30-50'si bu durumdan etkilenmektedir. Ciddi akut GVHH insidansı %14 olup, akut GVHH transplant ilişkili mortalitenin en önemli nedenidir (54)(55). GVHH gelişen hastalarda ilk basamak tedavi olarak steroidler kullanılırken, steroid tedavisine yanıtsızlık ve direnç gelişmesi durumunda ikinci basamak tedavi seçenekleri kullanılabilmektedir. Mortalite oranları %20 olarak bildirilmekle birlikte klinik durum ve risk faktörlerinin birleşmesiyle bu oran %80-90'lara kadar çıkabilmektedir (6) (71).

Bizim çalışmamızda HKHN yapılan hastaların %48.1'inde akut graft versus host hastalığı gelişti. Akut GVHH gelişen hastaların 8'inde (%61.5) cilt, 2'sinde (%15.4) gastrointestinal sistem, 3'ünde (%23.1) hem cilt hem GIS GVHH'si gelişti. Hastaların çoğunda (9 hasta/%69.2) grade 1-2 akut GVHH gelişirken, sadece 3 hastada (%23.2) grade 3-4 akut GVHH gelişimi izlendi. Median cilt GVHH'si gelişme günü 27 (4-37), median GIS GVHH'si gelişme günü 75 gündü. Çalışmamızda GVHH gelişen hastaların 2'si (%15.4) kaybedildi. Bu hastalardan biri MMRD'den (babadan) posttransplant siklofosfamid verilerek nakil yapılan AKİY olgusuydu. Bu olguda Grade 1 cilt GVHH'si gelişmiş olup; *Pnemocystis jirovecii* ve CMV pnömonisine bağlı akut solunum yetmezliğiyle kaybedildi. Diğeri ise DOCK-8 eksikliği nedeniyle babasından MMRD nakil yapılan bir kız hastaydı. Bu hasta akut pankreatit ve grade 3 GIS GVHH'sine bağlı kaybedildi. Kaybedilen hastaların 2'si de akut GVHH gelişen hastalardı; fakat GVHH gelişen ve gelişmeyen grup arasında sağ kalım açısından istatiksel fark bulunmadı.

Akut GVHH gelişiminde rol oynayan risk faktörleri; akraba dışı donör, HLA uyumsuzluğu, alıcı verici cinsiyet uyumsuzluğu, alıcı verici kan grubu uyuşmazlığı, hazırlama rejimi yoğunluğunun artması, GVHH profilaksisi, kök hücre kaynağının periferik kök hücre olması, donörün CMV seropozitif olması, alıcının transplant esnasında enfeksiyonu olması, CD34 sayısının artması olarak sıralanabilir (7)(54).

Bizim çalışmamızda akut GVHH gelişen hastaların 7'sinin (%53.8) vericileri MMRD'ydi (haploidantik). GVVH gelişmeyen grupta ise sadece bir verici MMRD idi. GVHH gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında vericinin MMRD olması GVHH gelişimi açısından çalışmamızda istatiksel olarak anlamlı bulundu. Diğer risk faktörleri olan alıcı verici cinsiyet uyumsuzluğu, alıcı verici kan grubu uyuşmazlığı, hazırlama rejimi yoğunluğu, kök hücre kaynağı, alıcının nakil esnasında enfeksiyonu olması, CD34 sayısının yüksek olması açısından GVHH gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında istatiksel olarak anlamlı bulunmadı. GVHH profilaksisi açısından bakıldığında posttransplant siklofosfamid alan tüm olgularda akut GVHH geliştiği; ancak diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı. Bu hastaların birinde akut grade 1-2 cilt, akut GIS GVHH'si ise grade 3 olarak izlenirken; diğer iki hastada akut cilt GVHH'si grade 1-2 olarak izlendi. GVHH gelişen ve gelişmeyen grup arasında risk faktörleri açısından fark bulunmamasının, çalışma grubunu oluşturan hasta sayısının az olmasıyla açıklanabileceği düşünüldü.

Hematopoetik kök hücre nakli sonrası, akut GVHH dışında birçok komplikasyon görülebilir (14). Çalışmamızda HKHN sonrası gelişen komplikasyonlara bakıldığında ilk sırada 14 hastada gelişen enfeksiyonun, ikinci sırada ise 13 hastada (%48.1) görülen akut graft versus host hastalığının yer aldığı izlendi. Engrafman sendromu 5 olguda izlenirken, HKHN sonrası ciddi komplikasyonlardan biri olan sinuzoidal obstruksiyon sendromu hiçbir vakada görülmedi. GVHH gelişen ve gelişmeyen hastalar arasında komplikasyonlar açısından istatiksel anlamlı fark bulunmadı.

Akut graft versus host hastalığı transplant ilişkili mortalitenin en önemli sebeplerindendir. Bu kadar ağır sonuçları olan bir durumun klinik bulgular ortaya çıkmadan öngörülebilmesi, tedavi yanıtının değerlendirilebilmesi ve transplant ilişkili mortalitenin öngörülebilmesi için dünya çapında prognostik ve prediktif bir biyomarkır bulma çalışmaları devam etmektedir. (72)

Yetişkin yaş grubunda bu konuda çokça çalışma bulunmasına rağmen; pediatrik yaş grubunda yapılmış çalışmalar sınırlı ve çok az sayıdadır.

Çalışmamızın hipotezi; ST2 ve Reg3α'nın allojenik HKHN yapılmış pediatrik yaş grubunda akut GVHH belirtileri ortaya çıkmadan serumda yükselebileceği, akut GVHH gelişen olgularda steroid tedavisine direnci gösterebileceği ve transplant ilişkili mortaliteyi öngörebileceğiydi.

ST2, IL-1 ailesinin bir üyesi olan IL-33'ün reseptörüdür. Membran bağlayıcı ve soluble olmak üzere iki formu bulunan bu reseptörün soluble formu, IL-33/ membran bağlayıcı ST2 etkileşimini engelleyerek akut GVHH patofizyolojisinde rol oynar. Reg3- α (Regenerating islet-derived protein), gastrointestinal epitel hücrelerinden salınır ve özellikle hasar gören Paneth

hücrelerine özgüdür. Akut GVHH esnasında Paneth hücre hasarı nedeniyle üretimi azalsa da, kandaki düzeyi gastrointestinal GVHH esnasında belirgin olarak artmaktadır (68)(73).

Bizim çalışmamızda çalışma grubumuzu oluşturan 27 hastanın hepsi pediatrik yaş grubundan olup; çalışma grubunun median yaşı 3.5 yaştı. Allojenik HKHN endikasyonlarını primer immün yetmezlikler ve hematolojik hastalıklar oluşturdu. Serum örnekleri; hastalardan hazırlama rejimi verilmeden nakil öncesi, nakil sonrası 7. gün ve GVHH gelişen olgularda GVHH geliştiği gün alındı. Sağlıklı kontrol grubunu oluşturan olgulardan 1 kez serum örneği alındı. HKHN yapılmış 27 hastadan nakil öncesi ve nakil sonrası 7. günde alınan ST2 düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre istatiksel olarak anlamlı yüksek bulundu; fakat aynı günlerde HKHN yapılmış hastalardan alınan Reg3α düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmadı. HKHN yapılmış hastalar GVHH gelişenler ve gelişmeyenler olarak iki gruba ayrıldığında ise GVHH gelişen/ gelişmeyen hastalar ile sağlıklı kontrol grubu arasında ST2 düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptandı. GVHH gelişen grupta, gelişmeyen gruba göre ST2 düzeyleri sayısal olarak yüksek saptansa da istatiksel açıdan anlamlı farklılık bulunamadı. ST2'nin akut cilt ve GIS GVHH'si geliştiği günlerdeki düzeyleri arasında da istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Çalışmamızda ST2 düzeyleri sadece GVHH gelişenlerde yüksek bulunmadı. GVHH gelişmeyen gruptan alınan örneklerdeki nakil öncesi ve 7. gün ST2 düzeyleri de sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulundu. Çalışmamızın sonuçları ST2 düzeylerinin pediatrik yaş grubunda, akut GVHH'yi öngörmede prognostik bir biyomarkır olmadığını düşündürmektedir. ST2 düzeylerinin GVHH gelişmeyen grupta da yükselmesinin nedeni; ST2'nin başka inflamasyon durumlarında da yükselmesi olabilir (74). ST2 düzeylerinin yükseldiği diğer inflamasyon durumları; inflamatuar bağırsak hastalıkları, kronik gastrointestinal inflamasyonla giden hastalıklar, akut respiratuar distress sendromu, astım, allerji, nonallerjik akciğer hastalıkları, kardiyak yetmezlik, atopik dermatit, sepsis ve travma olarak sayılabilir (75)(76)(77)(78)(79). GVHH gelişmeyen hasta grubunda sayılan bu inflamatuar komorbid durumların birinin veya birkaçının olması ST2'nin GVHH gelişmeyen hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek olmasını açıklayabilir.

Reg3α düzeyleri açısından HKHN yapılan hastalar ve sağlıklı kontrol grubu arasında istatiksel anlamlı fark bulunmadı. Literatüre bakıldığında Reg3α'nın gastrointestinal sistem GVHH'sine spesifik olduğu ve özellikle ciddi akut GIS GVHH'sinde belirgin olarak kanda yükseldiği birçok yetişkin çalışmasında bildirilmiştir (7) (80)(81). Literatürden farklı olarak bizim çalışmamızda GIS GVHH'si gelişen hastalar için Reg3α düzeyleri istatiksel olarak anlamlı bulunmadı. Çalışmamızda Reg3α düzeyleri akut GVHH gelişimi için prognostik bir biyomarkır olarak bulunmadı ve akut GIS GVHH'sine spesifik olduğu gösterilemedi.

Çalışmamızda akut GVHH gelişen 13 hastanın 13'ü de birincil tedavi olarak metilprednizolon tedavisi aldı. 8 hastanın ise steroid direnci olması nedeniyle ikinci basamak tedavi gereksinimi gelişti. Steroid direnci; 2 mg/kg/g metilprednizolon tedavisine 7-10 gün içinde yanıtsız, 3-4 gün içinde kliniği kötüleşen veya steroid içeren 28 günlük immünsupresif tedaviye tam yanıt alınamayan olguları tanımlamaktadır (82). Steroid direnci nedeniyle ikinci basamak tedavi gereksinimi olan akut GVHH gelişen hastalarda ROC analizi yapılarak ST2 ve Reg3α için cut-off değerleri belirlendi. GİS GVHH'si gelişen hasta sayısının çok az olması nedeniyle bu değişkenler için cut- off değeri hesaplanamadı. Hiçbir nicel değişken için p değeri anlamlı bulunmadı. Literatürden farklı olarak bizim çalışmamızda ST2 ve Reg3α düzeylerinin GVHH gelişen hastalarda steroid direncini öngörmediği gösterildi.

2 yıllık çalışma süreci içerisinde HKHN yapılan 27 hastadan 2'si kaybedildi. Bu hastalardan 2'si de akut GVHH gelişen hastalardı. Kaybedilen hasta sayısının ve çalışma populasyonunun az olması nedeniyle ST2 ve Reg3α düzeylerinin transplant ilişkili mortaliteyle ilişkisi değerlendirilemedi.

Literatüre bakıldığında yetişkin yaş grubunda ST2 ve Reg3α'nın akut GVHH gelişimini, transplant ilişkili mortaliteyi öngörmede ve tedavi yanıtını değerlendirmede aday biyomarkırlar olarak kullanıldığı birçok çalışma bulunmaktadır. McDonald ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları 23 biyomarkırın analiz edildiği 2015 yılındaki bir çalışmada, hastalardan nakil sonrası 14 ± 3. günlerinde alınan ST2 düzeyinin 1 yıllık transplant ilişkili mortaliteyi en iyi gösteren biyomarkır olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmadaki hastaların median yaşı 52 olup, allojenik HKHN endikasyonlarını hematolojik hastalıklar oluşturmuştur. (83) Levine ve arkadaşlarının 2016 yılında yayınladıkları 492 HKHN yapılmış ve akut GVHH tanısı almış hastada yaptıkları 13 senelik bir çalışmada, akut GVHH tanısı alıp steroid tedavisi başlandıktan 48 saat sonra alınan serum örneklerinde çalışılan ST2 ve Reg3α düzeylerinin kullanıldığı bir algoritma oluşturulmuş, bu algoritmanın 6 aylık transplant ilişkili mortaliteyi ve 28. gün sonunda sistemik steroid tedavisine yanıtsız olguları öngörebildiği bildirilmiştir. Çalışma grubunu oluşturan hasta grubunda allojenik HKHN yapılma endikasyonları hematolojik hastalıklar olup, hastaların median yaşı 52'dir (84). Abu Zaid ve arkadaşlarının 2016 yılında yayınladıkları 211 hastanın dahil edildiği bir çalışmada; 28. günde serumdaki ST2 düzeyinin transplant ilişkili mortaliteyi göstermede etkin olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmada hastaların median yaşı 45 olup, allojenik HKHN endikasyonlarını hematolojik hastalıklar oluşturmuştur. Plazma serum örnekleri prospektif olarak toplanmış ve nakil sonrası 28, 100, 180 ve 365. günlerde hastalardan alınmıştır. Bu çalışmanın diğer çalışmalardan farklı olarak ST2 blokajının akut GVHH gelişimini önlemede bir tedavi modalitesi olarak kullanılabileceğini önermesidir (85). Hartwell ve

arkadaşlarının 2017 yılında yayınlandıkları 10 yıl süren çok merkezli prospektif bir çalışmada, malign veya malign olmayan hematolojik hastalıklar nedeniyle HKHN yapılan 1287 hasta çalışmaya dahil edilmiş olup; bu hastalardan transplantasyon sonrası 7±3. günde serum örneği alınmıştır. Çalışmanın amacı akut GVHH gelişiminden önce prognostik bir biyomarkır bulabilmek, 6 aylık transplant ilişkili mortaliteyi önceden tahmin edebilmektir. Çalışmaya dahil edilen hastaların median yaşı 52 olup; bu çalışmanın sonucunda ST2 ve Reg3α düzeylerinin çalışmanın belirlediği yüksek risk kategorisindeki hastalarda daha yüksek olduğu, postnakil +7. günde akut GVHH bulguları gelişmeden bu iki biyomarkerın kanda yükseldiği gösterilmiştir (7). Monfried ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptıkları 17 merkezli, 15 yıllık, 507 hastanın dahil edildiği çalışmada ST2 ve Reg3α düzeylerinin 7 günlük akut GVHH tedavisi sonrasında steroid direncini göstermede prediktif olduğu gösterilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastaların median yaşı 51 olup, tüm hastalara malign veya malign olmayan hematolojik hastalık nedeniyle allojenik HKHN yapılmıştır. Bu çalışmada akut GVHH gelişen hastalardan steroid tedavisi başlangıcından sonraki +7. günde kan örneği alınmıştır. Hasta popülasyonu 1 test, 2 validasyon kohortu olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Grupların her birindeki hastalar steroid tedavisine yanıtlı ve dirençli olmak üzereye ikiye ayrılmıştır. 3 grupta yapılan analizde steroid direnci olan hastalarda ST2 ve Reg3α'nın 1 yıllık transplant ilişkili mortaliteyi gösterdiği bildirilmiştir (70). Rowan ve Paczesny'nin 2019 yılında yayınladığı bir makalede ST2'nin özellikle transplant sonrası 7-14 gün arasında diagnostik, prognostik, prediktif ve tedavi yanıtını göstermede iyi bir biyomarkır olduğu bildirilmektedir (80). 2020 yılında Karakulak ve arkadaşlarının 17 akut GVHH gelişmiş HKHN hastasından akut GVHH geliştiği gün topladığı plazma örneklerinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığı ülkemizden yapılan bir çalışmada ST2 düzeyi akut GVHH gelişen hastalarda anlamlı olarak yüksek bulunmuş, Reg3α düzeyleri ise akut GVHH ve kontrol grubu arasında anlamlı olarak yüksek bulunmamıştır. Araştırmacılar Reg3α düzeylerini yüksek bulmamalarını, akut GIS GVHH'si olan hasta sayısının az olmasıyla açıklamışlardır. Hastaların median yaşı 42 olup, allojenik HKHN endikasyonlarını hematolojik hastalıklar oluşturmuştur (86).

Çalışmamızın yukarıda özetlenen diğer çalışmalara göre farklı yanları bulunmaktadır. Çalışma grubunu sadece pediatrik yaş grubundan olgular oluşturdu. Allojenik HKHN endikasyonları arasında sadece hematolojik hastalıklar değil, primer immün yetmezlikler de bulunmaktaydı. HKHN yapılan hastalardan serum örnekleri nakil öncesi, nakil sonrası 7. gün ve akut GVHH gelişen hastalarda GVHH geliştiği gün alındı.

Literatüre bakıldığında biyomarkır çalışmalarında hazırlama rejimi verilmeden önce alınan örneklerin çalışıldığı çok az çalışma bulunmaktadır. Bizim çalışmamızda nakil öncesi ST2 düzeylerinin hem GVHH gelişen hem de gelişmeyen grupta sağlıklı kontrol grubuna göre

yüksek bulunması nedeniyle nakil öncesi ST2 düzeylerini etkileyebilecek faktörlere bakıldığında yeterli çalışmanın olmadığı görülmüştür. Bu çalışmalardan biri Rowan ve arkadaşlarının 2013-2018 yılları arasında ST2 ve Reg3α'nın da içlerinde olduğu 4 biyomarkırın prognostik değerini araştıran çok merkezli bir çalışmadır. Çalışma grubunda 10 yaş altı 170, 10 yaş üstü 245 hasta bulunmaktadır. Bu çalışmanın diğer çalışmalardan en önemli farkı pediatrik yaş grubunu da çalışma grubuna dahil etmesi ve nakil öncesi serum örneklerinin çalışmaya alınmasıdır. Allojenik HKHN endikasyonlarını diğer çalışmalarda olduğu gibi hematolojik hastalıklar oluşturmuştur. Hastalardan serum örnekleri hazırlama rejimi verilmeden önce, nakil sonrası 7, 14 ve 21. günlerde alınmıştır. Bu çalışmada ST2 düzeylerinin yaşla arttığı ve 10 yaş altı hastalarda nakil öncesi transplant ilişkili mortaliteyi gösterdiği bildirilmiştir (87). ST2'nin yaşla korelasyonuna değinen bir çalışmada ise ST2 düzeylerinin yaşla arttığı ve erkeklerde daha yüksek olduğu bildirilmiştir (78). Bizim çalışmamızda ise literatürden farklı olarak yaş azaldıkça ST2 düzeylerinin arttığı gözlendi. Bu farklılığın çalışma grubundaki hasta sayısının az olmasıyla ilişkili olabileceği düşünüldü.

Vander Lugt ve arkadaşlarının 2000-2010 yılları arasında 673 hastayla yaptıkları bir çalışmada nakil sonrası 14. günde alınan serum örneklerindeki ST2 düzeylerinin transplant ilişkili mortaliteyi ve steroid tedavisine direnci gösterdiği bildirilmektedir. Serum örnekleri nakil günü 0. günden başlayarak nakil sonrası 100. güne kadar toplanmış olup, GVHH gelişen hastalarda tedaviye başlandıktan 48 saat içinde serum örneği alınmıştır. Bu çalışmanın en önemli özelliklerinden birisi ST2 düzeylerinin myeloablatif hazırlama rejimi alan grupta 0, 14 ve 21. günlerde düşük yoğunluklu hazırlama rejimi alan gruba göre yüksek olmasıdır (88). Bizim çalışmamızda hazırlama rejimi-ST2 ilişkisine bakıldığında; nakil öncesi /+7. gün ST2 düzeyleriyle myeloablatif hazırlama rejimi alan, düşük yoğunluklu hazırlama rejimi alan ve hazırlama rejimi almayan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldı. ST2 düzeyleri açısından hazırlama rejimleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Balakrishnan ve arkadaşlarının 2016-2019 yılları arasında akut GVHH gelişen 210 hastayla yaptığı bir çalışmada nakil sonrası 28. günde hastalardan alınan serum örneklerindeki ST2 düzeylerinin transplant ilişkili mortaliteyi gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmanın önemli özelliklerinden birisi hasta popülasyonunun median yaşının 13.5 yaş olması ve serum örneklerinin hazırlama rejimi verilmeden önce, hazırlama rejimi sonrası, nakil sonrası 14 ve 28. günlerde alınmasıdır. Allojenik HKHN endikasyonlarını hematolojik hastalıklar oluşurmuştur. Bununla birlikte bu çalışmada hazırlama rejimi verilmeden önceki ST2 düzeylerinin, 14. güne kadar artış trendi gösterdiği belirtilmiştir (81). Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak hazırlama rejimi öncesi alınan serum örneklerindeki ST2 düzeyleri +7. güne kadar azalma

trendi göstermekteyken; akut GVHH gelişen hastalarda 7. günden GVHH gelişen güne kadar tekrar arttığı saptandı. ST2 ve Reg3α düzeylerinin cilt veya GIS GVHH'sine spesifik olduğu gösterilemedi.

Çalışma grubumuzu oluşturan hasta profilinin heterojen olması nedeniyle nakil öncesi ST2 düzeylerini yükselten faktörlerden birinin hastalık tipi olabileceği düşünüldü. Buna yönelik olarak AKİY, AKİY dışı PIY ve malign ve malign olmayan hematolojik hastalıklar olarak hastalar 4 gruba ayrıldığında AKİY dışı PİY grubunda nakil öncesi ST2 düzeylerinin diğer gruplardan yüksek olduğu görüldü; ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bu yüksekliğin AKİY dışı PİY grubunda immün disregülasyonla giden primer immün yetmezliklerin de yer almasına bağlı olabileceği düşünüldü.

Çalışmamızda bazı kısıtlılıklar bulunmaktadır. COVİD-19 pandemisi hayatımızın her alanını etkilediği gibi bu çalışmayı da etkilemiştir. COVİD-19 pandemisi nedeniyle yurtdışı verici sayısının azalması, verici güvenliğiyle ilgili problemler nakil yapılan hasta sayısının düşmesinin nedenlerindendir. Çalışmamızın prospektif, longitidunal bir çalışma olması ve çalışma sürecinin kısıtlı olması çalışmamıza dahil edilen hasta sayısının beklenenden az olmasına neden olmuştur. Çalışmamızın literatürden farklı sonuçları olması hasta sayısınının az olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Sonuç olarak; çalışmamız pediatrik yaş grubunda hematopoetik kök hücre nakli yapılan hastalarda ST2 ve Reg3α düzeylerinin akut graft versus host hastalığı gelişimini öngörmede birer biyomarkır olarak kullanabilirliğini sorgulayan önemli bir çalışmadır. Çalışmamızda ST2 ve Reg3α düzeyleri; pediatrik yaş grubunda akut GVHH gelişimini, tedavi direncini ve transplant ilişkili mortaliteyi göstermede birer biyomarkır olarak bulunmadı. Pediatrik yaş grubunda ST2 ve Reg3α düzeylerinin akut GVHH gelişimini, tedavi direncini ve transplant ilişkili mortaliteyi öngördüğü çok az çalışma bulunmaktadır. Bu alanda yapılan çalışmaların tamamında HKHN endikasyonlarını hematolojik hastalıklar oluşturmuştur. Çalışmamız bu alanda primer immün yetmezlik nedeniyle HKHN yapılan olguların çalışmaya dahil edildiği ilk çalışmadır. Bu konu hakkında farklı hasta gruplarının çalışma grubunu oluşturduğu, daha fazla hastanın çalışmaya dahil edildiği ve farklı biyomarkırların kullanıldığı prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

8. SONUÇ ve ÖNERİLER

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematopoetik Kök Hücre Nakli Ünitesi'nde Ocak 2019- Ocak 2021 yılları arasında allojenik HKHN yapılan, dahil olma ve olmama kriterlerine uygun olarak seçilen 27 pediatrik hasta çalışmaya dahil edildi ve akut GVHH gelişimi prospektif olarak izlendi. HKHN yapılan 27 hasta (akut GVHH gelişen 13, gelişmeyen 14) ve 19 sağlıklı gönüllü çalışmanın örneklemini oluşturdu.

1- HKHN yapılan 27 hastanın median yaşı 3.5 yaştı (0-14). Yaş grupları olarak 4 gruba ayrılan hastaların çoğunluğunu 0-2 yaş grubundaki hastalar oluşturdu. Bu hastaların 13'ü erkek (%48.1), 14'ü kızdı (%51.9).

2- Hastaların çoğunluğunu immünoloji hastalarında AKİY dışı PİY grubu (9 hasta, %33.3), hematoloji hastalarında malign hastalık grubu (9 hasta, %33.3) oluşturdu.

3- HKHN yapılan hastaların vericilerinin % 66.7 oranında aile içi- akraba vericiler olduğu görüldü. Tam uyumlu kardeş ve tam uyumlu aile içi vericiler % 37, doku uyumu olmayan aile içi vericiler (MMRD-haploidantik) %29.6, akraba dışı tam uyumlu vericiler ise % 33.3 oranındaydı

4- Alıcı verici arasındaki cinsiyet uyumsuzluğu 17 hastada (%62.9) saptandı. Alıcı verici arasında kan grubu uyuşmazlığı 6 hastada (%22.3) bulunmaktaydı.

5- HKHN esnasında 4 hastada (%14.9) enfeksiyon bulunmaktaydı. Bunlardan 3'ü ağır kombine immün yetmezlik tanısı alan hastalardı. Bu olgulardan 2'sine posttransplant siklofosfamidle in vivo T deplesyonu yapılarak, 1'ine CD34+ hücre seleksiyonu yapılarak haploidantik aile içi donörlerden nakil yapıldı. 4. Hasta akut myeloid lösemi tanısıyla takip edilen ve HKHN öncesi sol bacakta lokalize mukor enfeksiyonu olan bir hastaydı, hazırlama rejimi verilerek tam uyumlu akraba dışı nakil yapıldı.

6- Kök hücre kaynağı olarak hastaların 22'sinde (%81.4) kemik iliği kullanıldı. HKHN öncesi olguların%48.7'sine miyeloablatif, %29.6'sına düşük yoğunluklu hazırlama rejimi verilmişken; ağır kombine immün yetmezlik tanılı 6 hastaya hazırlama rejimi verilmedi.

7- En sık kullanılan akut GVHH profilaksisi kombinasyonu kalsinörin inhibitörü ve metoreksat kombinasyonu iken (12 hasta/ %44.4), 3 hastaya (%11.1) posttransplant siklofosfamid (PT-CY) verildi.

8- HKHN sonrası gelişen komplikasyonlara bakıldığında ilk sırada 14 hastada gelişen enfeksiyonun, ikinci sırada ise 13 hastada (%48.1) görülen akut graft versus host

hastalığının yer aldığı izlendi. Engrafman sendromu 5 olguda izlenirken, HKHN sonrası ciddi komplikasyonlardan biri olan sinuzoidal obstruksiyon sendromu hiçbir vakada görülmedi.

9- Engrafman sürelerine bakıldığında; myeloid engrafman gelişme süresi median 15 gün (11-28), trombosit engrafmanı gelişme süresi median 22 gündü. (13-46) Hastaların nakil sonrası median izlem süresi 15 aydı. (3-26)

10- Akut graft versus host hastalığı gelişen hastaların 8'inde (%61.5) cilt, 2'sinde (%15.4) gastrointestinal sistem, 3'ünde (%23.1) hem cilt hem GIS GVHH'si gelişti. Hastaların çoğunda (9 hasta/%69.2) grade 1-2 akut GVHH gelişirken, sadece 3 hastada (%23.2) grade 3-4 akut GVHH gelişimi izlendi. Median cilt GVHH'si gelişme günü 27 (4-37), median GIS GVHH'si gelişme günü 75 gündü.

11- Akut GVHH gelişen hastaların tümüne GVHH geliştiği gün metilprednizolon tedavisi başlandı. Bu hastalardan 8'inde (%61.5) MPZ tedavisine yanıt alınamadığından dolayı tedaviye ikinci basamak tedavi ajanlarından biri veya birkaçı eklendi.

12- Akut GVHH gelişen ve gelişmeyen hasta grupları arasında yaş, cinsiyeti tanı açısından istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. ($p>0.05$)

13- GVHH gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında vericinin MMRD olması GVHH gelişimi açısından istatiksel olarak anlamlı bulundu. ($p=0.013$)

14- Alıcı-verici cinsiyet uyumsuzluğu, alıcı verici kan grubu uyuşmazlığı, transplant esnasındaki enfeksiyon durumu, kök hücre kaynağı, hazırlama rejimi, GVHH profilaksisi ve verilen CD34 sayısı açısından akut GVHH gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

15- Akut GVHH gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında; akut GVHH haricinde komplikasyon, myeloid/ trombosit engrafman süreleri ve HKHN sonrası izlem süreleri açısından karşılaştırma yapılmış olup; istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. ($p>0.05$)

16- Çalışma grubunda yer alan olgulardan PİY tanılı iki hasta nakil sonrasında kaybedildi. Bu iki hasta da akut GVHH gelişen hasta grubunda olmasına rağmen; GVHH gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında sağ kalım açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. ($p>0.05$)

17- Nakil öncesi ve nakil sonrası 7. gün alınan serum örneklerinde ölçülen ST2 düzeyleri HKHN yapılan olgularda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0.05$). Aynı günlerde alınan örneklerdeki Reg3α düzeyleri açısından bu iki grup arasında anlamlı fark bulunmadı. ($p=1.000$)

18- Nakil öncesi ölçülen ST2 düzeyleri GVHH gelişen, GVHH gelişmeyen ve sağlıklı kontrol grubu arasında karşılaştırıldı. Nakil öncesi ST2 düzeyleri bakımından; GVHH gelişen/ gelişmeyen ve sağlıklı kontrol grubu arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulundu. ($p<0,001$).

19- Nakil öncesi ölçülen ST2 düzeyleri, GVHH gelişen grupta sayısal olarak yüksek olsa da; GVHH gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında nakil öncesi ST2 düzeyleri bakımından istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. ($p=0.684$)

20- Nakil sonrası 7. günde alınan örneklerdeki ST2 düzeyleri; GVHH gelişen, GVHH gelişmeyen ve sağlıklı kontrol grubu arasında karşılaştırıldı. GVHH gelişen/ gelişmeyen ve sağlıklı kontrol grubu arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulundu. ($p<0,05$).

21- Nakil sonrası 7. gün alınan örneklerdeki ST2 düzeyleri bakımından GVHH gelişen ve GVHH gelişmeyen gruplar arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. ($p>0.05$)

22- Reg3α nakil öncesi ve nakil sonrası 7. gün düzeyleri bakımından hiçbir grup arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. ($p>0.05$)

23- Akut GVHH gelişen olgulardan, GVHH geliştiği gün alınan örneklerdeki ST2 düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna göre istatiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. ($p<0.001$)

24- Akut cilt ve akut GIS GVHH'si geliştiği günlerde olgulardan alınan örneklerdeki ST2 düzeyleri arasında bu iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. ($p>0.05$).

25- 3 grup arasında yapılan karşılaştırmada GVHH geliştiği günlerde olgulardan alınan örneklerdeki Reg3α düzeyleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. ($p>0.05$)

26- HKHN yapılan 27 hastanın nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeyleri açısından primer immün yetmezlik ve hematalojik hastalıklar arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. ($p>0.05$)

27- HKHN yapılan 27 hastanın nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeyleri açısından AKİY dışı PİY grubunda sayısal olarak diğer hastalık alt gruplarına göre yükseklik saptandı; fakat hastalık alt gruplarına göre istatiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. ($p>0.05$)

28- GVHH gelişen 13 hastanın nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeyleri açısından primer immün yetmezlik ve hematalojik hastalıklar arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. ($p>0.05$)

29- GVHH gelişen 13 hastanın nakil öncesi ve +7. gün ölçülen ST2 düzeyleri açısından AKİY dışı PİY grubunda sayısal olarak diğer gruplara yükseklik saptandı; fakat hastalık alt gruplarına göre istatiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. ($p>0.05$)

30- Nakil öncesi ve nakil sonrası +7. gün ölçülen ST2 düzeyleri açısından hazırlama rejimi almayan, myeloablatif hazırlama rejimi alan ve düşük yoğunluklu hazırlama rejimi alan hastalar arasında istatiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. ($p>0.05$)

31- Nakil öncesi alınan örneklerdeki ST2 düzeylerinin yaşla korelasyonuna bakıldığında; nakil yapılan 27 hastada ve sağlıklı kontrol grubunu oluşturan 19 olguda yaş azaldıkça ST2 düzeylerinin arttığı gözlendi.

32- Steroid direnci nedeniyle ikinci basamak tedavi gereksinimi olan akut GVHH gelişen hastalarda ROC analizi yapılarak ST2 ve Reg3α cut-off değerleri belirlendi. ST2 GIS GVHH ve Reg3 α GİS GVHH verilerinin istatistik olarak anlamlı sayıda olmaması nedeniyle bu değişkenler için cut- off değeri hesaplanamadı. Hiçbir nicel değişken için p değeri anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

9. KAYNAKLAR

1. Cant AJ, Galloway A JG. Practical Hematopoetic stem cell transplantation. Oxford: Blackwell Publishing, 2007: 23-40
2. Mazierz R, Slater S. Blood and Marrow Transplant Handbook Comprehensive Guide for Patient Care, New York: Springer, 2011: 3-8
3. Gregory M. Hematopoetic Stem Cell Transplantation in Children and Adolescents. Pediatr Review, 2016;37:135–45.
4. Copelan EA. Hematopoetic Stem Cell Transplantation. New England Journal of Medicine. 2016;354:1813–26.
5. Yeşilipek MA. Hematopoetic stem cell transplantation in children. Turk Pediatri Arşivi 2014;49(2):91–8.
6. Aladağ E, Kelkitli E, Göker H. Acute graft-versus-host disease: A brief review. Turkish Journal of Hematology, 2020;37(1):1–4.
7. Hartwell MJ, Özbek U, Holler E, Renteria AS, Major-Monfried H, Reddy P ve ark. An early-biomarker algorithm predicts lethal graft-versus-host disease and survival. JCI insight. 2018;3(16):1–9.
8. Jacobson L, Marks EK, Robson M, Zirkle RE. Effect of spleen protection on mortality following X-radiation. Journal of Laboratory Clinical Medicine, 1949;34:1538–43.
9. Buckley R, Mushous D, Fischer A. Bone Marrow Transplantation for Primary Immunodeficiency Disease. In: Primary Immunodeficiency Diseases A Molecular and Genetic Approach. Oxford, Oxford University Press, 2014. p. 854–71.
10. Tanyeli A, Aykut G, Demirel AO, Akçaoğlu T. Archives Medical Review Journal Hematopoietic Stem Cell Transplantation and its History. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 2014;23(1):1–7.
11. Beebe D, Belani K. Hematopoetic Stem Cell Transplantation: History and Perioperative Care of Patients Undergoing HSCT. Transplant Anesthesia, 2018;8:197–201.
12. Gluckman E, Broxmeyer H, Auerbach A, Friedman H, Douglas G, Devergie A ve ark. Hematopoetic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umblical cord-blood from HLH- identical sibling. New England Journal of Medicine, 1989;321:1174–8.
13. Khaddour K, Hena C, Mewawalla P. Hematopetic Stem Cell Transplantation. Internet: StatPearls Publishing. 2020.

14. Phelan R, Margolis D. Hematopoetic Stem Cell Transplantation. In: Nelson Textbook of Pediatrics, Philadelphia: Elsevier, 2020, 1156-59

15. Kanate AS, Majhail NS, Savani BN, Bredeson C, Champlin RE, Crawford S ve ark. Indications for Hematopoietic Cell Transplantation and Immune Effector Cell Therapy: Guidelines from the American Society for Transplantation and Cellular Therapy. Biology of Blood Marrow Transplant [Internet]. 2020;26(7):1247–56.

16. Abbas A, Lichtman A, Plillai S. Doğumsal ve Edinsel İmmun Yetmezlikler. In: Temel İmmunoloji, İmmun Sistemin İşlev ve Bozuklukları, Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri 2014.:225–33.

17. Peters C, Matthes-Martin S, Poetschger U, Schrappe M, Schrauder A, Von Stackelberg A ve ark. Stem-cell transplantation in children with acute lymphoblastic leukemia:A prospective international multicenter trial comparing sibling donors with matched unrelated donors-The ALL-SCT-BFM-2003 trial. Journal of Clinical Oncology. 2015;33(11):1265–74.

18. Spierings E. Minor histocompatibility antigens: past, present, and future. Tissue Antigens. 2014;84 (4):374.

19. Antin H, Raley D. Manual of Stem Cell and Bone Marrow Transplantation. Cambridge: Cambridge University Press; 2013, 15-20

20. Ayuk F, Balduzzi A. Donor Selection for Adults and Pediatrics. In: The EBMT Handbook Hematopoetic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies; Switzerland: Springer, 2019, 87–97.

21. Nagler A, Shimoni A. Conditioning. In: The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies, Switzerland: Springer, 2019, 99–107.

22. Lake R, Robinson B. Immunotherapy and chemotherapy, a practical partnership. National Review Cancer. 2005;5:397–405.

23. Lum SH, Hoenig M, Gennery AR, Slatter MA. Conditioning Regimens for Hematopoietic Cell Transplantation in Primary Immunodeficiency. Current Allergy and Asthma,. 2019;19(11).

24. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, Giralt S, Lazarus H, Ho V ve ark. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. Biology of Blood Marrow Transplant. 2009;15:1628–33.

25. Nash R, Antin J, Karanes C, Fay J, Avalos B, Yeager A ve ark. Phase 3 study comparing methotrexate and tacrolimus with methotrexate and cyclosporine for prophylaxis of acute graft-versus-host disease after marrow transplantation from unrelated donors. Blood. 2000;96:2062–8.

26. Abud TB, Zazzo A Di, de Oliveira LA, de Sousa LB. Graft-versus-Host Disease: Review. Revista Brasileira de Oftalmologia 2019;78(1):65–9.

27. Zeiser R, Leveson-Gower DB, Zambricki EA, Kambham N, Beilhack A, Loh J ve ark. Differential impact of mammalian target of rapamycin inhibition on CD4 +CD25+Foxp3+ regulatory T cells compared with conventional CD4+ T cells. Blood. 2008;111(1):453–62.

28. Ganguly S, Ross DB, Panoskaltsis-Mortari A, Kanakry CG, Blazar BR, Levy RB ve ark. Donor CD4+Foxp3+regulatory T cells are necessary for posttransplantation cyclophosphamide-mediated protection against GVHD in mice. Blood. 2014;124(13):2131–41.

29. Ancín I, Ferrá C, Gallardo D, Peris J, Berlanga J, Gonzalez JR ve ark. Do corticosteroids add any benefit to standard GVHD prophylaxis in allogeneic BMT? Bone Marrow Transplantion, 2001;28(1):39–45.

30. Ho VT, Kim HT, Li S, Hochberg EP, Cutler C, Lee SJ ve ark. Partial CD8+ T-cell depletion of allogeneic peripheral blood stem cell transplantation is insufficient to prevent graft-versus-host disease. Bone Marrow Transplantion, 2004;34(11):987–94.

31. Ozen M, Bozdag SC, Cakmak G, Topcuoglu P, Eroglu AH, Gunduz M ve ark. Steroide dirençli akut graft versus host hastalığının tedavisinde antilenfosit / Timosit globulin: Bir merkezdeki 20 yıllık deneyim. UHOD - Uluslararasi Hematoloji Dergisi 2015;25(4):236–44.

32. Valcarcel D, Sureda A. Graft Failure. In: The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies, Switzerland, Springer 2019; 307–13.

33. Hatzimichael E, Tuthill M. Hematopoietic stem cell transplantation. Stem Cells and Cloning Advances and Applications, 2010;3(1):105–17.

34. İkinciogullari A, Çağdaş D, Dogu F, Tugrul T, Karasu G, Sule H ve ark. Clinical Features and HSCT Outcome for SCID in Turkey. Journal of Clinical Immunology. 2019;39(316–323).

35. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ. ve ark, National Institutes of Health Consensus Development Project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. diagnosis and staging working group report. Biology of Blood Marrow Transplantion 2005;11(12):945–56.

36. Corbacioglu S, Hönig M, Lahr G, Stöhr S, Berry G, Friedrich W. ve ark, Stem cell transplantation in children with infantile osteopetrosis is associated with a high incidence of VOD, which could be prevented with defibrotide. Bone Marrow Transplantion 2006;38(8):547–53.

37. Atilla E, Atilla PA, Seval GC, Bektaş M, Demirer T. Current approach to early gastrointestinal and liver complications of hematopoietic stem cell transplantation. Turkish Journal of Gastroenterology 2019;30(2):122–31.

38. Majhail NS, Parks K, Defor TE, Weisdorf DJ. Diffuse Alveolar Hemorrhage and Infection-Associated Alveolar Hemorrhage following Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Related and High-Risk Clinical Syndromes. Biology of Blood Marrow Transplantion, 2006;12(10):1038–46.

39. Hildebrandt GC, Fazekas T, Lawitschka A, Bertz H, Greinix H, Halter J. ve ark, Diagnosis and treatment of pulmonary chronic GVHD: Report from the consensus conference on clinical practice in chronic GVHD. Bone Marrow Transplantion, 2011;46(10):1283–95.

40. Hirsch H, Pergam S. Human adenovirus, polyomavirus and parvovirus infections in patients undergoing hematopetic stem-cell transplantation. In: Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation: Stem Cell Transplantation, Wiley Online Library 2016; 1090–4.

41. Armenian SH, Chow EJ. Cardiovascular disease in survivors of hematopoietic cell transplantation. Cancer. 2014;120:469–79.

42. Denier C, Bourhis J-H, Lacroix C, Koscielny S, Bosq J, Sigal R. ve ark, Spectrum and prognosis of neurologic complications after hematopoetic transplantation. Neurology. 2006;67:1990–7.

43. Jung MH, Cho KS, Lee JW, Chung NG, Cho B, Suh BK. ve ark, Endocrine complications after hematopoietic stem cell transplantation during childhood and adolescence. Journal of Korean Medical Sciences, 2009;24(6):1071–7.

44. Billingham R. The biology of graft versus host reactions. Harvey Lectures. 62:21–78.

45. Ball L, Egeler R. Acute GvHD: Pathogenesis and classification. Bone Marrow Transplantion. 2018;41:58–64.

46. Chen CT, Liu CY, Yu Y Bin, Liu CJ, Hsiao LT, Gau JP. ve ark, Characteristics and risk of chronic graft-versus-host disease of liver in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. PLoS One. 2017;12(9):1–13.

47. Martin PJ, Gooley T, Anasetti C, Petersdorf EW, Hansen JA. HLAs and risk of acute graft-vs.-host disease after marrow transplantation from an HLA-identical sibling. Biology of Blood Marrow Transplantion. 1998;4(3):128–33.

48. Dickinson A, Charron D. NonHLA immunogenetics in hematopoetic stem cell transplantation. Current Opinion of Immunology. 2005;17:517–25.

49. Granell M, Ispizua AU, Arostegui J, Aviles FF, Martinez C, Rovira M. Effect of NOD2/ CARD15 variants in T cell depleted allogenic stem cell transplantation. Hematologica. 2006;91(1372–1393).

50. Jenq R, Marcel R. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: individualized stem cell and immune therapy of cancer. National Review of Cancer. 2010;10:213–21.

51. Penack O, Holler E, Van Den Brink MRM. Graft-versus-host disease: Regulation by microbe-associated molecules and innate immune receptors. Blood. 2010;115(10):1865–72.

52. Couriel D, Caldera H, Champlin R, Komanduri K. Acute graft-versus-host disease: Pathophysiology, clinical manifestations, and management. Cancer. 2004;101(9):1936–46.

53. Zeiser R, Marks R, Bertz H, Finke J. Immune pathogenesis of acute graft versus host disease: implications for novel preventive and theraupetic strategies. Annals Hematology, 2004;83(551–565).

54. Ferrara J, Levine J, Reddy P, Holler E. Graft Versus Host Disease. Lancet. 2009;373:1550–61.

55. Zeiser R, Blazar B. Acute Graft Versus Host Disease Biology, Prevention and Therapy. New England Journal of Medicine. 2018;377:2167–79.

56. Jagasia M, Hildegard T, Arora M, Williams K, Wolff D, Cowen EW. ve ark, National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group Report. Biology of Blood Marrow Transplantion, 2015;21:389–401.

57. Holtan SG, Marcelo P, Weisdorf DJ. Acute graft-versus-host disease: A bench-to-bedside update. Blood. 2014;124(3):363–73.

58. Goker H, Haznedaroglu IC, Chao NJ. Acute graft-vs-host disease: Pathobiology and management. Experimental Hematology, 2001;29(3):259–77.

59. Schoemans HM, Lee SJ, Ferrara JL, Wolff D, Levine JE, Schultz KR ve ark. EBMT−NIH−CIBMTR Task Force position statement on standardized terminology & guidance for graft-versus-host disease assessment. Bone Marrow Transplant [Internet]. 2018;53(11):1401–15. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/s41409-018-0204-7

60. Harris AC, Young R, Devine S, Hogan WJ, Ayuk F, Bunworsate U ve ark. International, multi-center standardization of acute graft-versus-host diseade clinical data collection: e raport from the MAGIC consortium. Biology of Blood Marrow Transplantion, 2016;22(1):4–10.

61. Carpenter PA, MacMillan ML. Management of Acute Graft Versus Host Disease in Children. Pediatric Clinics of North America, 2010;57:273–95.

62. Holler E, Greinix H, Zeiser R. Acute Graft Versus Host Disease. In: The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies, Switzerland: Springer, 2019; 323–30.

63. Dignan FL, Clark A, Amrolia P, Cornish J, Jackson G, Mahendra P ve ark. Diagnosis and management of acute graft-versus-host disease. British Journal of Hematology, 2012;158(1):30–45.

64. Lawitschka A, Lucchini G, Strahm B, Dalle JH, Balduzzi A, Gibson B ve ark. Pediatric acute graft-versus-host disease prophylaxis and treatment: surveyed real-life approach reveals dissimilarities compared to published recommendations. Transplant International, 2020;33(7):762–72.

65. Hockenbery DM, Cruickshank S, Rodell TC, Gooley T, Schuening F, Rowley S ve ark. A randomized, placebo-controlled trial of oral beclomethasone dipropionate as a prednisone-sparing therapy for gastrointestinal graft-versus-host disease. Blood. 2007;109(10):4557–63.

66. Ringdén O, Uzunel M, Rasmusson I, Remberger M, Sundberg B, Lönnies H ve ark. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. Transplantation, 2006;81(10):1390–7.

67. Paczesny S, Hakim FT, Pidala J, Cooke K, Lathrop J, Griffith L ve ark. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-Versus-Host Disease: III. The 2014 Biomarker Working Group Report. National l

Institutes Health Consensus Devolepment Project Criteria Clinical Trials Chronic Graft-Versus-Host Dis III 2014 Biomark Working Group Report, Biology of Bone Marrow Transplantation, 2015;21:780–92.

68. Hill GR, Koyama M. Cytokines and costimulation in acute graft-versus-host disease. Blood. 2020;136(4):418–28.

69. Chen S, Zeiser R. Novel Biomarkers for Outcome After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Frontier Immunology, 2020;11(August).

70. Major-Monfried H, Renteria AS, Pawarode A, Reddy P, Ayuk F, Holler E ve ark. MAGIC biomarkers predict long-term outcomes for steroid-resistant acute GVHD. Blood. 2018;131(25):2846–55.

71. Levine JE, Logan B, Wu J, Alousi AM, Ho V, Bolaños-Meade J ve ark. Graft-versus-host disease treatment: Predictors of survival. Biology of Blood Marrow Transplantion, 2010;16(12):1693–9.

72. Paczesny S. Post-haematopoietic cell transplantation outcomes: why ST2 became a 'golden nugget' biomarker. British Journal of Haematology. 2020; 951-67

73. Harris AC, Ferrara JLM, Braun TM, Holler E, Teshima T, Levine JE ve ark. Plasma biomarkers of lower gastrointestinal and liver acute GVHD. Blood. 2012;119(12):2960–3.

74. Griesenauer B, Paczesny S. The ST2/IL-33 axis in immune cells during inflammatory diseases. Frontier Immunology, 2017;8(APR):1–17.

75. Díaz-Jiménez D, Núñez LE, Beltrán CJ, Candia E, Suazo C, Álvarez-Lobos M ve ark. Soluble ST2: A new and promising activity marker in ulcerative colitis. World Journal of Gastroenterology 2011;17(17):2181–90.

76. Bajwa E, Volk JA, Christiani DC, Scott R, Matthay MA, Thompson BT. Prognostic and diagnostic value of plasma soluble ST2 concentrations in Acute Respiratory Distress Syndrome. Critical Care Medicine, 2013;41:1–20.

77. Oshikawa K, Kuroiwa K, Tago K, Iwahana H, Yanagisawa K, Ohno S ve ark. Elevated soluble ST2 protein levels in sera of patients with asthma with an acute exacerbation. American Journal of Respiratory Critical Care Medicine, 2001;164(2):277–81.

78. Coglianese EE, Larson MG, Vasan RS, Ho JE, Ghorbani A, Mccabe EL ve ark. Distribution and Clinical Correlates of the Interleukin Receptor Family Member Soluble ST2 in the Framingham Heart Study. Clinical Chemistry, 2012;58:1673–81.

79. Hoogerwerf JJ, Tanck MWT, Van Zoelen MAD, Wittebole X, Laterre PF, Van Der Poll T. Soluble ST2 plasma concentrations predict mortality in severe sepsis. Intensive Care Medicine, 2010;36(4):630–7.

80. Rowan C, Paczesny S. Biomarkers for Early Complications After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Clinical Laboratory Medicine, 2019;39:61–72.

81. Balakrishnan B, Illangeswaran RSS, Rajamani BM, Pai AA, Raj IX, Paul DZ ve ark. Prognostic plasma biomarkers of early complications and graft-versus-host disease in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. eJHaem. 2020;1(1):219–29.

82. Garnett C, Apperley JF, Pavlu J. Treatment and management of graft-versus-host disease: Improving response and survival. Theraupetic Advances of Hematology, 2013;4(6):366–78.

83. McDonald GB, Tabellini L, Storer BE, Lawler RL, Martin PJ, Hansen JA ve ark. Plasma biomarkers of acute GVHD and nonrelapse mortality: Predictive value of measurements before GVHD onset and treatment. Blood. 2015;126(1):113–20.

84. Levine JE, Braun TM, Ph D, Harris AC, Holler E, Taylor A ve ark. A prognostic score for acute graft-verus-host disease based on biomarkers: a multicenter stuyd. Lancet Haematology, 2016;2(1):21–9.

85. Zaid MA, Wu J, Wu C, Logan BR, Yu J, Cutler C ve ark. Plasma biomarkers of risk for death in a multicenter phase 3 trial with uniform transplant characteristics post–allogeneic HCT. Blood. 2017;129(2):162–70.

86. Karakulak E, Demiroğlu H, Malkan Ü, Göker H, Büyükaşık Y. Assessment of ST2 and Reg3a Levels in Patients with Acute Graft-versus-Host Disease After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Turkish Journal of Medical Sciences 2020; 355-58

87. Rowan CM, Pike F, Cooke KR, Krance R, Carpenter PA, Duncan C ve ark. Assessment of ST2 for risk of death following graft-versus-host disease in pediatric and adult age groups. Blood. 2020;135(17):1428–37.

88. Lugt M Vander, Braun TM, Hanash S, Ritz J, Ho VT, Joseph A ve ark. ST2 as a Marker for Risk of Therapy-Resistant Graft-versus-Host Disease and Death. New England Journal of Medicine 2013;369:529–39.

89. Dogu F. Primer İmmün Yetersizliklerde Hematopoetik Kök Hücre Nakli ve Diğer Yeni

Tedavi Yaklaşımları, Türkiye Milli Pediatri Derneği Temel Pediatri, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2020; 2478-2480

90. Hong T, Wang R, Wang X, Yang S, Wang W, Gao O. ve ark. Interplay between the intestinal microbiata and acute graft versus host disease: experimental evidence and clinical significance, frontiers in Immunology, 2021; Volume 12: 1-16