

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ALLOJENİK KÖK HÜCRE NAKLİ YAPILAN HASTALARDA AKUT VE KRONİK
GRAFT VERSUS HOST HASTALIĞI GELİŞİMİNDE GAYTA KALPROTEKTİN
DÜZEYİNİN ROLÜ VE ANTİBİYOTİK KULLANIMI İLE İLİŞKİSİ**

Dr. Fatih Mehmet DOĞAN

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Meltem KURT YÜKSEL

ANKARA

2020

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ALLOJENİK KÖK HÜCRE NAKLİ YAPILAN HASTALARDA AKUT VE KRONİK
GRAFT VERSUS HOST HASTALIĞI GELİŞİMİNDE GAYTA KALPROTEKTİN
DÜZEYİNİN ROLÜ VE ANTİBİYOTİK KULLANIMI İLE İLİŞKİSİ**

Dr. Fatih Mehmet DOĞAN

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Meltem KURT YÜKSEL

ANKARA

2020

Düzenleme tarihi: 24/12/2014

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN	
Adı, Soyadı : Dr.Fatih Mehmet DOĞAN	Sınav tarihi: 15/06/2020
Anabilim/Bilim Dalı : İç Hastalıkları A.B.D.	
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Meltem KURT YÜKSEL	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı: Allojenik Kök Hücre Nakli Yapılan Hastalarda Akut ve Kronik Graft Versus Host Hastalığı Gelişiminde Gayta Kalprotektin Düzeyinin Rolü ve Antibiyotik Kullanımı İle İlişkisi	
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	

Prof. Dr.Pervin TOPÇUOĞLU
Jüri Başkanı
Hematoloji Bilim Dalı

Prof. Dr. Meltem KURT YÜKSEL
Tez Danışmanı
Jüri Üyesi
Hematoloji Bilim Dalı

Prof. Dr. Zübeyde Nur ÖZKURT
Jüri Üyesi
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Hematoloji Bilim Dalı

TEŞEKKÜR

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimi süresince desteğini esirgemeyen ve emeği geçen bütün değerli öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Asistanlık ve tez sürecinde yardım ve desteğini esirgemeyen, hekimliği, kişiliği ve yardımseverliği ile yol gösteren çok değerli tez danışmanım Prof. Dr. Meltem KURT YÜKSEL' e teşekkürü borç bilirim.

Tezimin tamamlanmasında yardımını esirgemeyen Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Ceren KARAHAN'a, Prof. Dr. Devran GERÇEKER'e, Biyolog Derya BİRİKEN'e; fikirleri ile tez sürecinde yardımını esirgemeyen Enfeksiyon Hastalıkları Ana Bilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Alpay AZAP'a, Uzm. Dr. Güle ÇINAR'a; veri ve örnek toplanmasında destek olan başta Nebahat ÖZTÜRK ve Tuğba ŞEN olmak üzere KİT Servis hemşirelerine, varlıkları ile mutlu olduğum arkadaşlarım Şaban KÖKTÜRK'e, Mustafa Can ŞENOYMAK'a, Rana KAYNAK'a ve tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Araştırma bütçesini karşılayan Ankara Üniversitesi BAP' a ayrıca teşekkür ederim.

Hayatım boyunca desteğini hiç esirgemeyen, zor günlerimde yanımda olan, en büyük destekçim, kıymetli ablam Tuba Güher DEMİR'e, değerli eşi Menderes DEMİR'e teşekkür ederim. Bugünlere gelmemde en büyük emeğe sahip olan çok sevdiğim, babam Hüseyin Doğan'ı ve annem Teslime DOĞAN' ı saygı ve rahmetle anıyorum.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vi
GRAFİKLER LİSTESİ.....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Graft Versus Host Hastalığı.....	3
2.1.1. Akut GVHH ve Tedavisi	5
2.1.2. Kronik GVHH ve Tedavisi	8
2.2. Mikrobiota, Antibiyotik ve GVHH İlişkisi.....	11
2.3. Kalprotektin ve GVHH İlişkisi	24
3. GEREÇLER VE YÖNTEM	29
3.1. Araştırma Protokolü	29
3.2. Yöntem ve Veri Toplama	29
3.2.1. Retrospektif Çalışma	29
3.2.2. Prospektif Çalışma	31
3.3. İstatistiksel Analiz	31
4. BULGULAR	33
4.1. GVHH- Antibiyotik İlişkisi	33
4.1.1. Hastaların Genel Özellikleri.....	33
4.1.2. GVHH Genel Özellikler	36
4.1.3. Hastaların Kültür Üreme Özellikleri	38
4.1.4. GVHH-Üreme İlişkisi.....	40
4.1.5. GVHH-Antibiyotik İlişkisi	41
4.1.6. Hasta Alt Grupların Antibiyotik Kullanım ve GVHH Karşılaştırılması	46
4.1.6.1. Akut GVHH ile Hasta Alt Grup İlişkisi.....	46
4.1.6.2. Hasta Alt Grupların Antibiyotik Kullanımlarının Karşılaştırılması.....	47

4.1.6.3. Akut Lösemi Hasta Alt Gruplarının Akut GVHH ve Antibiyotik Kullanımlarının Karşılaştırılması	49
4.1.6.4. Çoklu Değişken Analiz Sonuçları	51
4.2. Kalprotektin -GiS GVHH ilişkisi	53
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	56
5.1. Antibiyotik ve GVHH ilişkisi.....	56
5.2. GiS GVHH - Kalprotektin	62
6. ÖZET	67
7. SUMMARY	69
8. KAYNAKLAR	71

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADV	: Akraba Dışı Verici
AGVHH	: Akut Graft Versus Host Hastalığı
AHKHN	: Allojenik Hematopoetik Kök Hücre Nakli
AIC	: Anti İnflamatuvar Clostridia
ALP	: Alkalen fosfataz
ALL	: Akut Lenfoblastik Lösemi
AML	: Akut Myeloid Lösemi
APC	: Antijen Sunan Hücre
AV	: Akraba Verici
CMV	: Sitomegalo Virüs
CRP	: C-Reaktif Protein
ESBL	: Extended (Genişletilmiş) Spektrumlu Beta Laktamaz
FEN	: Febril Nötropeni
FK	: Fekal Kalprotektin
FMT	: Fekal Mikrobiota Transplantı
GİS	: Gastrointestinal sistem
GLP	: Glikopeptit
GVHH	: Graft Versus Host Hastalığı
HLA	: Human (İnsan) Lökosit Antijen
IBMRT	: International Bone Marrow Transplant Registry (Uluslararası Kemik İliği Nakil Birliği)
IFN	: İnterferon
İBH	: İnflamatuvar Barsak Hastalığı
İBS	: İrritabl Barsak Sendromu
LPS	: Lipopolisakkarit
KC	: Karaciğer
KCFT	: Karaciğer Fonksiyon Testi
KX	: Kültür
KZYA	: Kısa Zincirli Yağ Asidi

MDS	: Myelodisplastik Sendrom
MHC	: Major Histokompabilite
RED-İNT	: Reduced Intensity (Azaltılmış Yoğunluk)
SOS	: Sinüzoidal Obstrüksiyon Sendromu
SY	: Solunum Yolu
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
VRE	: Vankomisin Rezistan Enterokok



TABLolar LİSTESİ

Tablo 4.1. Hastaların Genel Özellikleri.....	35
Tablo 4.2. Akut ve Kronik GVHH Gelişim Günleri	37
Tablo 4.3. Organ GHVD Gelişme Günleri	37
Tablo 4.4. Hastalarda Kültür Üreme Günleri	39
Tablo 4.5. AGVHH Gelişen ve Gelişmeyen Hastaların Üremelerinin Karşılaştırılması.....	40
Tablo 4.6. GİS AGVHH Gelişenlerle Gelişmeyenlerin Üremelerinin Karşılaştırılması.....	41
Tablo 4.7. GVHH Organ Tutulumlarının ve Tüm Hastaların Antibiyotik Kullanma Günleri	42
Tablo 4.8. AGVHH Gelişen ve Gelişmeyenlerin Antibiyotik Kullanım Günü Karşılaştırılması.....	43
Tablo 4.9. İlk 100 Günde AGVHH Gelişen ve GVHH Gelişmeyenlerin Antibiyotik Kullanım Günlerinin Karşılaştırılması.....	43
Tablo 4.10. De novo AGVHH Gelişen Hastalarla GVHH Gelişmeyenlerin Antibiyotik Kullanım Günlerinin Karşılaştırılması.....	44
Tablo 4.11. Kronik GVHH Gelişen Hastalarla GVHH Gelişmeyenlerin Antibiyotik Kullanım Günlerinin Karşılaştırılması	44
Tablo 4.12. Kronik GVHH Gelişmesinde Antibiyotiklerin Kullanma Günlerinin ROC Analizi ve Eşik Değer Sonuçları.....	45
Tablo 4.13. Tanı, Yaş, Hazırlama Rejimi, Donör Tipi ile AGVHH Gelişme Karşılaştırması	47
Tablo 4.14. Yaş Gruplarının Antibiyotik Kullanım Günlerinin Karşılaştırılması	47
Tablo 4.15. Tanı Grupları ile Antibiyotik Kullanım Günlerinin Karşılaştırılması	48
Tablo 4.16. Donör Tiplerinin Antibiyotik Kullanım Günlerinin Karşılaştırılması	49
Tablo 4.17. Hazırlık Rejimlerinin Antibiyotik Kullanım Gün Karşılaştırılması.....	49
Tablo 4.18. Akut Lösemi Olan Hastalarda, Hazırlama Rejimi, Donör Tipi ile AGVHH Gelişme Karşılaştırılması	49

Tablo 4.19. Akut Lösemi Hastalarının Hazırlık Rejimlerinin Antibiyotik Kullanımlarının Karşılaştırılması	50
Tablo 4.20. Akut Lösemi Hastalarında Donör Tipi ile Antibiyotik Kullanım Günlerinin Karşılaştırılması	51
Tablo 4.21. Kronik GVHH Gelişen Hastalarla Hiç GVHH Gelişmeyen Hastaların Karşılaştırması	52
Tablo 4.22. KRGVHH Gelişimi İçin Multivariate Lojistik Regresyon Analizi Sonucu.....	53
Tablo 4.23. GİS GVHH Gelişmeyen Hastalarla Gelişenlerin FK Değerlerinin Karşılaştırılması	53
Tablo 4.24. GİS GVHH Gelişmeyen Hastalarla Gelişen Hastaların İlk 21. Gündeki En Yüksek CRP Değerleri	54
Tablo 4.25. GİS GVHH Gelişen Hastaların 0.gün, 1.gün, 7.gün, 14.gün, 21.gün CRP Değerleri Karşılaştırılması	54
Tablo 4.26. GİS GVHH Gelişen Hastalarda Ölçüm Yapılan Günlerde CRP ile Fk Arasındaki Korelasyon Değerlendirmesi	55

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 4.1. Beş Yıllık Takipte GVHH Gelişim Yüzdeleri	36
Grafik 4.2. AGVHH Organ Tutulum Yüzdeleri	37
Grafik 4.3. Hastaların Kültür Üreme Özellikleri	39
Grafik 4.4. Kültürlerde Üreyenler	39
Grafik 4.5. AGVHH Gelişenlerde Antibiyotik Kullanım Yüzdeleri.....	42
Grafik 4.6. Kr. GVHH gelişiminde aerob kullanım günü ROC eğrisi	45
Grafik 4.7. Kr. GVHH Gelişiminde anaerob Kullanma Günü ROC Eğrisi.....	46
Grafik 4.8. Kr. GVHH gelişiminde glikopeptit kullanım günü ROC eğrisi	46

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hematopoetik kök hücre nakli hematolojik malignitelerde, hematolojik malign olmayan hastalıklarda (kemik iliği yetmezlikleri, immün yetmezlikler gibi) , bazı solid tümörlerde ve bazı metabolik hastalıklarda kür amacı ile hematopoetik kök hücrelerin özel yöntemlerle bir kişiden toplanarak aynı kişiye veya başka bir kişiye sadece yüksek doz kemoterapi veya ikisinin birlikte kullanımının sonrasında santral kateter yolu ile nakledilmesi işlemidir. Hematopoetik kök hücre nakli otolog ve allojenik hematopoetik kök hücre nakli olarak iki şekilde gerçekleştirilmektedir. Otolog hematopoetik kök hücre nakli, toplanan kök hücrelerin kişinin kendisine nakledilmesi işlemi iken allojenik hematopoetik kök hücre nakli ise kök hücrelerin başka bir kişiye verilmesi işlemidir. Allojenik kök hücre naklinde de otolog nakilde olduğu gibi nakil öncesi yüksek doz kemoterapotik veya radyoterapi içeren hazırlık rejimi uygulanır. Bu rejim ile malign hastalıklarda habis klonun ortadan kaldırılması ve nakledilecek hücrelere kemik iliğinde yer açılması planlanır. Diğer bir amaç da alıcının nakledilen kök hücreleri reddetmesini önlemektir.

Nakil sonrası birçok komplikasyon izlenebilir. Bunların en önemlileri ise enfeksiyon (özellikle febril nötropeni) ve Graft Versus Host Hastalığı (GVHH) dır. Enfeksiyon riski özellikle engraftman öncesi izlenen pansitopeni, santral venöz kateter, mukozit varlığı, immunsupresif ilaçların kullanılması ve GVHH gelişimi nedeni ile daha fazladır. Engraftman sonrası enfeksiyon riski ortadan kalkmadığı gibi, özellikle kronik GVHH durumunda daha fazla olmak üzere azalmış şekilde devam eder. Bu nedenle hastalara profilaktik olarak belirli süreler boyunca antibiyotik antiviral ve antifungal tedaviler verilir.

Diğer önemli bir komplikasyon olan GVHH ise donör lenfositlerinin alıcı antijenlerine karşı reaksiyon geliştirdiği bir klinik tablodur. Risk faktörleri arasında HLA uyumsuzluğu, cinsiyet uyumsuzluğu, hazırlama rejim yoğunluğu, kök hücre kaynağı, GVHH profilaksi rejimleri gibi faktörler yer almaktadır. Tam uyumlu nakillerde bile %30 lara varan oranda GVHH izlenebilmektedir. Etkilenen organlar sıklıkla cilt , gastrointestinal sistem (GİS), karaciğer, akciğer ve gözdür. Kesin tanısı tutulan bölgeden alınan biyopsi materyalinin incelenmesi ile yapılır. Tedavide

kortikosteroidler ve çeşitli immunsupresifler kullanılmaktadır. Tedavilere rağmen önemli bir morbidite ve mortalite sebebi olmaya devam etmektedir.

1970 li yıllar ve sonrasında yapılan çalışmalarda GVHH ile barsak mikrobiota arasındaki ilişki araştırılmış ve GVHH gelişen hastaların barsak mikrobiota türlerinde değişiklikler izlenmiş, belirli türlerin mikrobiyatada baskın hale geldiği saptanmış ve bu değişimin bazı antibiyotiklerin kullanımı ile belirgin değiştiği saptanmıştır. GVHH gelişen hastaların barsak mikrobiatasında değişim izlenmesi de nakil öncesi ve nakil sonrası kullanılan antibiyotiklerin kullanımı ile GVHH arası ilişkiyi araştırmayı gerektirmiştir. Yapılan çalışmalarda bazı antibiyotiklerin kullanımının GVHH riskinde artışa neden olduğu saptanmıştır.

Kalprotektin, nötrofil ve makrofajların sitozolünde bulunan, antibakteriyel ve antifungal özelliği de olan, hücre kültürlerinde apoptozu indüklediği gözlenmiş bir proteindir. Gaytada artmış miktarda izlenmesinin barsaklara nötrofil göçünün ve sonuç olarak da inflamasyonun göstergesi olarak kabul edilmektedir. İnflamatuvar barsak hastalıklarında fekal kalprotektin takibi hastalık aktivitesi ile ilişkili bulunmuştur. Bu durumdan yola çıkarak gastrointestinal GVHH tanısında kesin tanı için gerekli olan kolonoskopi gibi invaziv işlemlere olan ihtiyacı azaltmak için gaytada kalprotektin düzeyi ölçümünün GVHH ile ilişkisinin araştırılması fikri doğmuştur. Yapılan çalışmaların bir kısmında GVHH ile kalprotektin düzeyi ilişkili bulunurken bir kısmında bulunamamıştır.

Çalışmamızda allojenik kök hücre nakli yapılan hastalarda antibiyotik kullanımı ile GVHH gelişimi arası ilişkiyi araştırmayı, böylece bu özel hasta grubunda kullanılacak uygun antibiyotik seçimine yardımcı olmayı planladık. Ayrıca çalışmamızın diğer kısmında ise allojenik kök hücre nakli yapılan hastaların gayta örneklerinde kalprotektin düzeyini ölçerek GVHH gelişen hastalarda kalprotektin düzeyini saptamayı ve GVHH erken tanısında veya GVHH'yi ön görmedeki rolünü araştırmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Graft Versus Host Hastalığı

Allojenik hematopoetik kök hücre nakli (AHKHN) hematolojik, onkolojik maligniteler ile bazı konjenital ve edinilmiş hastalıklarda (aplastik anemi, immun yetmezlik, talasemi gibi) kür elde etme amacı ile kullanılan, hastaya doku uyumu tam veya tam olmayan akraba veya akraba dışı kişilerden elde edilen hematopoetik kök hücrelerin nakledilmesidir.

Uzun ve karmaşık bir süreç olan AHKHN sonrasında kullanılan ilaçlar, donör-hasta özellikleri, altta yatan hastalığın derecesi ve teknik nedenler gibi birçok nedene bağlı olarak komplikasyonlar gelişebilir. Bu komplikasyonların en önemlilerinden biri de Graft Versus Host Hastalığı (GVHH) dır.

Ciddi bir morbidite ve mortalite nedeni olan GVHH ilk kez 1966 yılında Billingham tarafından tanımlanmış olup, bağışıklığı yeterli donör hücrelerinin, bağışıklığı baskılanmış alıcının dokularını yabancı olarak algılaması ve bunun sonucunda da cilt, mukoza, gastrointestinal sistem (GIS), karaciğer, göz, akciğer gibi organ ve dokularda hasar ile seyreden heterojen klinik tablodur.

GVHH gelişmesi için gerekli koşullar olarak, graftın immunkompetan hücreler içermesi, konak hücrelerin donör hücrelerinde bulunmayan antijenler eksprese etmesi ve alıcı dokuların nakledilen hücrelere karşı etkin yanıt verememek üzere baskılanması olarak tanımlanmıştır (1).

Human Lökosit Antijen (HLA) uyumu ve uyumun derecesi, altta yatan hastalık, nakil anındaki hastalık durumu, alıcı ve donör cinsiyeti, hazırlık rejim yoğunluğu, ATG (anti timosit globulin) kullanımı, profilakside kullanılan rejimler, T lenfosit infüzyonu gibi birçok faktör GVHH gelişiminde risk faktörü olarak tanımlanmakla birlikte bunlar içinde en önemlisi HLA uyumsuzluk derecesidir.

İki primer Major Histokompabilite (MHC) sınıf antijen vardır. Bunlardan HLA-1 antijenleri yaygın dağılım gösterir ve neredeyse tüm hücreler üzerinde bulunur. Diğer sınıf olan HLA-2 antijenler ise makrofaj, dentritik hücreler, B lenfositler ve aktive T lenfositlerde eksprese edilirler.

Minör histokompabilite antijenleri ise endojen selüler proteinlerdir. Genetik polimorfizme bağlı değişkenlik gösterirler ve MHC antijenlerine bağlı olarak donör T lenfositlere sunulan küçük peptitlerdir. (2)

HLA uyumsuzlukları GVHH'nin potent tetikleyicileridir; fakat tam HLA uyumu durumunda gelişen GVHH'den, donör T lenfosit cevabını tetikleyen minör histokompabilite antijen uyumsuzluğu ve fenotipik olarak uyuşan MHC lokuslardaki tanımlanamayan uyumsuzluklar sorumlu tutulmaktadır. (3,4)

GVHH gelişmesi ile ilişkili olarak tanımlanmış bazı minör histokompabilite antijenleri; CD31, HA-1 cinsiyet spesifik DBY genidir. (5,6)

Klasik olarak GVHH, başlangıç zamanına göre 100 gün öncesi ve sonrası olarak akut ve kronik şekilde sınıflandırılrsa da bu sürelerin dışında akut ve kronik GVHH bulguları izlenmesi nedeni ile zamandan çok klinik bulguların akut kronik ayırımında kullanılması ağırlık kazanmıştır. Bu amaçla geliştirilen ve geniş kabul gören Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) konsensüs kriterleri, GVHH manifestasyonlarını teşhis edici veya ayırt edici kronik GVHH veya olağan akut ve kronik GVHH olarak tanımlamak için kullanılır. (7)

GVHH' ler başlangıç zamanına göre dört alt sınıfa ayrılabilir:

1- Akut GVHH: Vakalar AHKHN sonrasındaki 100 gün içinde gelişir ve akut GVHH özellikleri sergiler. Kronik GVHH' nin teşhis edici ve ayırt edici özellikleri yoktur.

2- Persistan, Rekürren, Geç Başlangıçlı Akut GVHH: Vakalar AHKHN 100 gün sonrasında gelişir ve akut GVHH özellikleri sergilerler. Kronik GVHH'nin teşhis edici ve ayırt edici özellikleri yoktur.

3-Klasik Kronik GVHH: Vakalar AHKHN sonrası herhangi bir zamanda gelişebilir. Akut GVHH özellikleri yoktur. Kronik GVHH' nin teşhis edici ve ayırt edici özellikleri vardır.

4-Örtüşen GVHH: Vakalar AHKHN sonrası herhangi bir zamanda gelişebilir. Akut GVHH ve Kronik GVHH'nin teşhis edici ve ayırt edici özellikleri vardır. Bazen kronik üzerine akut GVHH olarak da tanımlanırlar.

2.1.1. Akut GVHH ve Tedavisi

Klasik olarak akut GVHH, GVHH'nin AHKHN'den sonraki 100 gün içinde gelişmesi olarak tanımlanırken, yoğunluğu azaltılmış hazırlık rejimlerinin kullanımının artması ile de AHKHN'yi takip eden 100 günün ötesinde ortaya çıkmaktadır. Akut ve kronik ayrımı şimdilerde başlangıç zamandan ziyade histopatoloji ve organ tutulumuna göredir. (7)

AHKHN sonrası 100 gün içinde tipik akut GVHH bulguları izlenenler Klasik Akut GVHH olarak sınıflandırılırken, aynı bulguları 100 gün sonrasında, tipik olarak immunsupresyon azaltılması sırasında izlenmesi durumunda geç başlangıçlı GVHH olarak tanımlanır. (8)

Bazı klinisyenler 14 gün içinde gelişen akut GVHH semptomlarını tanımlamak için erken başlangıçlı veya hiperakut GVHH ismini kullanırlar. (9,10)

GVHH patolojik olarak belirgin inflamatuvar T lenfosit infiltrasyonu ve sonrasında gelişen doku hasarı ve apoptozla karakterizedir. Hazırlık rejimleri, doğal immun sistem ve GIS mikrobiota tüm bu patogeneze katkıda bulunurlar. (11,12)

Patofizyolojide üç basamaktan bahsedilir. Birinci basamakta; hazırlık rejimleri konak dokuya hasar verir. Tnf-alfa, IL-1 gibi inflamatuvar sitokin salınımına neden olur. Bu sitokinler major ve minör histokompatibilite antijenleri veya diğer moleküllerin konak antijen sunan hücrelerde (APC) ekspresyonunu artırarak donör T lenfositlerin alloreaktivitesini artırır. Hazırlık rejim ilişkili hasar gastrointestinal sistemde (GIS), lipopolisakkarit (LPS) gibi endotoksinlerin sistemik dolaşıma geçmesine ve ilave inflamatuvar uyarı oluşturmaya neden olur. (3)

İkinci basamakta donör T lenfositleri, sekonder lenfoid organlarda donör veya konak APC'lerle alloantijenleri T lenfositlere sunulması ile aktif hale getirilir. Donör T hücre aktivasyonu hücresel proliferasyon, TH1 baskınlığı, IL-2 ve IFN- gama sekresyonu ile karakterizedir.

Üçüncü basamak ise selüler efektörlerle hedef organlarda doku hasarı ve klinik tablo ile sonuçlanır. Bu basamak, uzamış inflamatuvar sitokin salınımı ve donör T lenfositlerin hedef dokuya yönlendirilmesi ile ilgilidir. Nötrofil ve mononükleer hücreler de hasara katkıda bulunur.

Klinik olarak akut GVHH, makülopapüler döküntü, abdominal krampın eşlik edebildiği diare ve bilirubin artışı ile karakterizedir. En sık cilt, GIS ve karaciğeri etkiler. Tüm insidans %40-60 arasındadır (13); fakat hazırlık rejimi, HLA uyum derecesi ve graft kaynağına göre bu oran değişebilir.

Cilt tutulumu lokalize veya difüz eritematöz döküntülerden ciddi vakalarda büllöz ve deskuamasyon gösterebilen ve Steven Johnson sendromdaki toksik epidermal nekrolizi taklit eden lezyonlara kadar geniş spektrumda izlenebilir. Cilt bulguları çoğu hastada ilk ve en sık klinik bulgu olarak nötrofil engraftman civarında gelişen makulopapüler döküntüdür. Döküntü başlangıçta ense, kulak, omuz, avuç içleri ve ayak tabanlarını içerir. Ağrılı, kaşıntılı olabilir. Sonrasında yayılarak birleşme özelliği gösterir ve ciddi olgularda büllöz lezyon gelişebilir.

Kesin tanı biyopsi ile ve deneyimli patoloğ tarafından değerlendirilmesini gerektirir (14). Biyopsi kesin sonuç vermediğinde ve yüksek klinik şüphe varlığında tanı, klinik olarak döküntülerin AHKHN sonrası belirgin zamanlarda izlenmesi ile de konulabilir.

Histopatolojik olarak vakuoler dejenerasyon, lenfosit infiltrasyonu, diskeratotik keratinositler, apoptozis sonucu bazal hücre ölümü, akantoliz ve dermal epidermal ayrım sınırında epidermoliz görülür (15).

GVHH GİS tutulumu alt ve üst GİS tutulum olarak ikiye ayrılabilir. Üst GİS tutulumunda bulantı, kusma, anoreksi, kilo kaybı; alt GİS tutulumunda abdominal kramp, hematokezya içeren veya içermeyen diare görülebilir. Her iki tutulum da birlikte olabilir. Üst GİS tutulumun önemi, semptomların spesifik olmaması ve multifaktöryel olup kolayca gözden kaçabilmesidir. Kullanılan ilaçlar, hazırlık rejimleri de benzer semptomlara neden olabilir. Ayrıca tedaviye dramatik cevap veren bu tutulumda tedavinin gecikmesi belirgin nutrisyonel eksikliklere yol açabilir. Tanıda endoskopi esnasında alınan biyopsilerin deneyimli patoloğ tarafından değerlendirilmesi önemlidir.

Alt GİS tutulum ise daha ciddidir. Hastalar diare ile belirgin sıvı kaybı ve buna eşlik edebilen ağrı ve kanama ile başvurabilirler. Diare, sekretuar karakterdedir ve epitel hasarı ile ilişkilidir. Tipik olarak açlıkta ve gün boyu devam eder.

Görüntülemelerde nonspesifik bulgular izlenir. Bilgisayarlı tomografide barsak duvarlarında kalınlaşma sık izlenir(18). Tanıdan şüphelenilen hastalarda endoskopik inceleme yapılmalıdır. Endoskopide akut GVHH'de noktasal eritemler, aftöz lezyonlar ve hatta mukozada soyulmalar izlenebilir (16,17). Endoskopide normal mukoza görüntüsü GVHH'yi ekarte ettirmez. Miyeloablatif rejim ile yapılan nakillerde, nakil sonrası yirmi gün içinde endoskopik görüntü ve histopatolojik bulguları, rejim ilişkili hasardan ayırmak zor olabilir. Fleksibl sigmoidoskopi tanıda çoğu hasta için yeterlidir (19,20). Total kolonoskopiye göre işlem ve hazırlığı daha kolaydır. Endoskopik görünüm deneyimli endoskopist varlığında tedavi başlamak için yeterli olabilir(21); fakat sitomegalovirüs (CMV) ve diğer etyolojilerden ayırım için biyopsi gerekir (19). Klinik şüphe varlığında negatif rektal biyopsi tanıyı ekarte ettirmez, alt ve üst GIS endoskopik değerlendirme yapılmalıdır. Histopatolojik değerlendirmede kriptik hücre nekrozu, ciddi vakalarda epitelin total soyulması izlenebilir. CMV enfeksiyonu da benzer patolojik değişiklikler yapabilir (22).

Hepatik GVHH karaciğer fonksiyon test bozukluğu ile en sık da bilirubin ve alkalen fosfataz (ALP) artışı ile prezente olur. Tanı için biyopsi gerekir; fakat işlem riskleri ve hasta durumu nedeni ile genellikle yapılamaz. Biyopside en sık olarak safra duktus hasarı veya kaybı ile kolestaz izlenir (23). AHKHN yapılan hastalarda ayrıca anormal karaciğer fonksiyon test (KCFT) sonuçları; sinüzoidal obstrüksiyon sendromu (SOS), hazırlık rejim ilişkili hepatotoksite, medikasyonlar gibi birçok sebeple meydana gelebilir.

Akut GVHH'de primer olarak cilt, GIS, karaciğer tutulsa da daha az olarak hematopoetik sistem, göz, akciğer ve böbrekler de tutulur. Hematopoetik tutulumda timik atrofi, sitopeni (özellikle trombositopeni), hipogamaglobulinemi (öz. Ig A eksikliği) görülebilirken, göz tutulumunda fotofobi, hemorajik konjunktivit, lagoftalmus izlenebilir. Renal tutulum, nefrit veya nefrotik sendrom (membranöz nefropati gibi) şeklindeyken, akciğer tutulumu ise intersitsiyel pnömonitis olarak izlenebilir (24).

Akut GVHH'yi derecelendirmek için çeşitli sistemler geliştirilmiştir; ama en sık kullanılan ve popüler olanı Glucksberg (1-4) ve Uluslararası Kemik İliği Nakli Birliği

(IBMRT) gradeleme sistemidir (25,26) (A-D). GVHH ciddiyeti organların tutulum derecesine göre değerlendirilir. Organların tutulum derecesi Glucksberg evrelemede performans durumu ile beraber, IBMTR de ise performans durumu olmadan değerlendirilir ve tüm evreleme prognostik öneme sahiptir. Grade I(A) GVHH hafif hastalık olarak tanımlanırken, grade 2(B) orta, grade 3(C) ağır, grade 4 (D) ise hayatı tehdit edici olarak ciddi değerlendirilir (27,28).

Tedavide standart ilk basamak olarak metilprednizolon veya prednison 1-2mg/kg kullanılır. 10 mg/kg üzeri dozlar sağ kalımı iyileştirmede ve grade 3-4' de faydalı bulunmamıştır (29). Grade 2 ve altında, 1 mg/kg dozlar, glukokortikoid toksitesinden korunmak için güvenli şekilde verilebilir (30). Komplet rezolüsyon ilk basamak tedavi sonrası %50' den az hastada izlenir ve steroid dirençlilerde uzun dönem sağ kalım daha azdır (31). Mezenkimal kök hücre nakli, mikofenolat mofetil, TNF (tümör nekrozis faktör) blokajı, glukokortikoide eklendiğinde hiçbirinde glukokortikoid tek başına kullanımına göre daha iyi sonuçlar izlenmemiştir (32).

Steroid refrakter GVHH için standart ikinci basamak tedavi yoktur. Tedavi tercihlerinin birbirine üstünlükleri yoktur. İkinci basamakta kullanılan seçenekler arasında; Daklizumab, sirolimus, mikofenolat mofetil, abx-cbl, anti TNF, ruksolitinib, visilizumab bulunmaktadır (33). Tedavi tercihi genelde klinisyenin tecrübesi, kullanılacak ajanın yan etki profiline göredir. Tüm bunlara rağmen sonuçlar çok iyi değildir.

2.1.2. Kronik GVHH ve Tedavisi

Kronik GVHH, AHKHN yapılan hastalarda uzun dönem hayat kalitesinin önemli belirleyicilerindendir. Kronik GVHH cilt, GİS, akciğer, yumuşak dokularda fibrozisle karakterize genelde nakilden 100 gün sonra izlenen bir klinik durumdur. Önemli etkisine rağmen patogenezi tam anlamıyla anlaşılamamış olmakla birlikte tedavi seçenekleri kısıtlıdır ve geniş ölçüde ampiriktir. Eskiden 100 gün sonrası gelişen GVHH'ler kronik GVHH olarak sınıflandırılırken, 100 gün sonrası akut GVHH klinik ve histopatolojik özelliklerin izlenmesi, örtüşen tabloların görülmesi ve aydınlatılan

biyolojik farklılıklar nedeni ile kronik GVHH ciddiyetini değerlendirmek için NIH konsensüs kriterleri tanımlanmıştır ve klinik sonuçlarla korele edilmiştir (34).

Kronik GVHH varlığı daha potent graft versus tümör etkisi ve daha düşük posttransplant relaps riski ile ilişkili bulunmuştur (35); fakat transplant ilişkili mortalite etkisi, relapstaki pozitif etkiden daha ağır basmaktadır (36).

Kronik GVHH önceden gelişmiş akut GVHH sonrası veya gelişen akut GVHH devamı olarak gelişebileceği gibi akut GVHH öyküsü olmadan da gelişebilir. AHKHN yapılan hastaların yaklaşık %40' ında gelişmekle birlikte görülme sıklığı risk faktörlerin durumuna göre %6-80 arasında değişmektedir (7).

Cilt, GİS, karaciğer, akciğerler en sık etkilenen organlar olmasına rağmen tüm dokularda tutulum izlenebilir (37).

Patolojik olarak etkilenen dokular göreceli olarak daha az selülerdir ve fibroproliferatif özellik gösterirler. Kronik GVHH gelişimi farklı hücre tipleri ve farklı hasar mekanizmalarını içerecek şekilde kompleks bir süreçtir (38). Hazırlık rejimi ile erken gelişen inflamasyon ,T lenfosit aktivasyonu ile başlar. Vasküler endotel hücre hasarı ile donör immun hücrelerin hasarlı dokuya ulaşımı kolaylaşır ve donör kaynaklı T ve B lenfositler, APC hücreler konak dokulara karşı hasarı artırır. Immuntoleran regülatör T hücrelerin (Treg) ve fonksiyonlarının kalsinörin inhibitörler ile azaltılması ve timik hasarı da bu etkiye katkıda bulunur. Abartılı tamir mekanizması, fibroblast aktivasyonu, kollajen birikimi ve fibrozis, irreversibl organ hasarı ve disfonksiyonuna yol açar.

Deneyisel çalışmalar üç fazlı mekanizmayı ortaya koymuştur (38). Birinci basamakta erken inflamasyon ve doku hasarı gelişir. Bu aşama, akut GVHH ye benzer ve hazırlık rejimi gibi faktörlerin doku hasarına sebep olması ve donör T hücrelere konak hücre protein sunum artması ile olur.

İkinci aşama kronik inflamasyon ve doku hasarıdır. Bu aşamada donör veya konak kaynaklı immun regülatuar cevap erken inflamasyonu kontrol altına almak için yeterli değildir (38). Erken inflamasyonun timustaki etkileri immun tolerans kaybına ve inflamasyonun devamına (39), T reg, B lenfosit ve NK hücrelerin regülasyonunda bozulma, kronik inflamasyona katkıda bulunur. Minör histokompatibilite antijenlerine,

nükleer antijenlere, DNA çift zincirlere karşı otoimmün hastalıklardaki gibi otoantikorlar gelişir ve bunlar da hasarı artırır (40).

Üçüncü aşamada ise disregüle olan immunité nedenli gelişen artmış hasar sonrası izlenen doku tamiri, skar ve fibrozisle sonuçlanır (38). Erken endotel hücre hasarı koagülasyon kaskadını aktive ederken kemotaktik faktörlerin salınmasına ve sonuçta fibroze yol açabilen TGF beta, TNF alfa, IL-1b, PDGF, matriks metalloproteinaz gibi faktörlerin makrofajlardan sentezlenmesine yol açar (41). IL-22 cilt tutulumlarına yardım eder (42). Fibroblastlar da ekstraselüler matriks üretim ve kollajen depolanmasına katkıda bulunur. Aktive Th2 ve Th17 T hücreler, IL-13 ve IL-17 sekresyonu ile fibroze katkıda bulunurlar (38). Cilt tutulumu en sık izlenen tutulumdur ve %60 civarı hastada izlenir. Klinik olarak sklerodermaya ilerleyebilen likenoid cilt lezyonları, poikilodermi, eritem, kuruluk, pigmentasyon, depigmentasyon morfea benzeri tutulumlar izlenir. Tırnaklarda kırılma, onikoliz, saçlı deride kısmi veya tam alopesi görülebilir.

Oral kavite tutulumunda ağızda ağrı, kuruluk, mukozit, atrofi, ülser, gingivitis izlenebilir. Göz tutulumunda oküler sikka sendromu benzeri klinik izlenir. Gözde kuruluk, kaşıntı, yanma, kemozis, katarakt gelişirken, ürogenital tutulumda vajinada kuruluk, dispareni, atrofi, striktür stenoz gelişebilir. Karaciğer tutulumunda KCFT değerlerinde, özellikle ALP değerlerinde ve bilirubin değerlerinde artış izlenir. Akciğer tutulumunda restriktif, obstrüktif akciğer hastalığı ve özellikle bronşiolitis obliterans görülebilir. GİS tutulumunda disfaji, odinofaji, bulantı, kusma, striktürler, emilim bozuklukları; kas iskelet tutulumunda fasiit, miyozit, artrit, eklemlerde kontraktür gelişebilir. Hematolojik tutulumda ise trombositopeni karşılaşılan tablolardandır.

Akut GVHH sıklığındaki azalmalara rağmen kronik GVHH sıklığı azalmamakta, aksine artmaktadır. Buna sebep olarak da, graft kaynağı olarak periferik kan kullanımı, nakil sonrası uzun dönem yaşayanlarda risk artışıdır. Bilinen tek önleyici, graft kaynağı olarak kemik iliğı kullanımı (43) ve graftan T hücre azaltımıdır (44).

Standart tedavi başlangıçta 1 mg/kg/g prednizon +/- kalsinörin inhibitörüdür. Hastaların uzun süre immunsupresif ihtiyaçları olur ve ortalama kullanım süresi 2 yıl

civarıdır (45). Hastaların yaklaşık yarısı ilk basamak tedaviye cevap vermez ve ikinci basamak tedavi ihtiyacı doğar.

Akut GVHH'deki gibi steroid refrakter vakalarda standart tedavi protokolü yoktur. İkinci basamakta ekstrakorporeal fotoferez, sirolimus, talidomid, pentostatin, ritüksimab, imatinib kullanılan ajanlar arasındadır.

2.2. Mikrobiata, Antibiyotik ve GVHH İlişkisi

İnsan mikrobiatası, insan vücudunda epitel bariyerlerde yaşayan bakteri, virüs, mantar, arkea ve diğer ökaryotik canlılardan oluşan topluluktur. Mikrobiata araştırılmasında mikroorganizmalardan en çok bakteriler, mikrobiata içeren organlardan da en fazla popülasyon içeren gastrointestinal sistem ve özellikle de kolondaki bakteri popülasyonu incelenmiştir. İnsan barsağında 500-1000 değişik çeşitte mikrobiata üyesi ve toplamda 100 trilyona yakın canlı mevcut olup, toplam mikrobiyatanın da insan genomundan 100 kat fazla gen içerdiği tahmin edilmektedir. Mikrobiata üyelerinin çoğu bakteridir (46) ve bu bakterilerin de %70 kadarı kolonda yaşar. Mikrobial yoğunluk fekal kitlede 10 üzeri 13-14/g dır (47).

Başlangıçta yeni doğan mikrobiatası vajinal yolla doğum sonrası vajinal floraya, sezaryen sonrası ise cilt ve çevre floraya benzemektedir. Adaptif immun sistem ve mikrobiata hayatın ilk üç yılında hızlı bir değişim ve gelişim içine girerken bu iki süreç birbiri ile derin etkileşim içindedir. Böylece barsak mikrobiyatası ilk üç yılda olgunlaşır, yetişkinlikte genelde görece stabil kalır; fakat konak genleri, konak immun sistemi, coğrafya, diyet, vücut ağırlığı, hayat tarzı, mevsim, cerrahi işlem, ilaç kullanımı gibi faktörlerden etkilenir (48). 60-70 yaş sonrası ise içerik yavaşça değişmektedir. Kırılganlıkla mikrobiata çeşitliliği arasında negatif ilişki izlenmektedir.

Gu ve arkadaşları jejunum ve ileuma kıyasla mide, duodenum ve kolonda daha fazla filogenetik çeşitlilik izlemiştir. Kolonda ise daha büyük oranda, komensal ve anaeroblar olan Bacteroidaceae, Prevotellaceae, Rikenellaceae, Lachnospiraceae ve Ruminococcaceae aileleri izlenirken, Laktobacillaceae ailesi ise mide ve ince barsakta daha fazla miktarda bulunmuştur (48). Barsak mikrobiatasındaki relativ baskın olduğu

kabul edilen türler; Eubacterium, Lactobacillus, Bacteroides, Clostridium 14a, 4a, Faecalibacterium, Bifidobacterium, Roseburia cinsleridir.

Vücuttaki en büyük mikrobiota popülasyonu alt GIS' te bulunmaktadır ve bu nedenle mikrobiota ile adaptif immun sistem arası etkileşim en büyük oranda burada gerçekleşir. İntestinal homeostazis dinamik süreçtir ve barsak mukoza bütünlüğü, immunolojik durum ve mikrobiota arası ilişki ile düzenlenir (49).

İntestinal immun sistem barsak bakterilerinin hemostazını sağlar ve disbiyozisten (mikrobiota dengesinin bozulması) korur. Epitel mukoza immun hücreleri, barsak mikrobiota hemostazını ve mikrobiota üyelerini; mukus üretimi, antimikrobial peptitler ve luminal immunglobulinlerle modüle ederler (48).

Barsaktaki mikrobial topluluklar, Clostridium difficile gibi patojenik mikroplara karşı korunmada ve metabolik süreçlerin regülasyonunda, sekonder lenfoid organ gelişiminde, regülatuar T lenfosit diferansiasyonunda, mukozal ve sistemik NK/T hücre gelişiminde, hafıza alloreaktif T hücre oluşumunda ve B lenfositlerden IgA sentezi gibi konak immun sistem matürasyonunda önemli rol oynar (48). Mikrobiyatayı şekillendiren doğal bağışıklık elemanlarının önemli bileşenlerinden biri de konak kaynaklı antimikrobial peptitlerdir. AMPs, Panet hücre kaynaklı defensinler ve REG3a gibi peptitler komensal olmayan mikroorganizmaları eleyen mikrobiom regülatörü olarak etki ederler (49). İntestinal komensal bakteriler; barsak epitelini AMPs üretimini stimule ederek, patojenik bakteri ve mantarlara karşı (49) korunmaya yardımcı olur.

Barsakta ve diğer epitel bariyerlerde komensal olarak yaşayan ve ağırlıklı olarak anaerob grupta yer alan bakteri popülasyonları konak olduğu insanın doğal ve adaptif bağışıklığı dışında metabolizma, enerji dengesi, sinir sistemi fizyolojisi, kognitif fonksiyonlar, kardiovasküler fonksiyonlar, nutrisyon, sirkadyen ritm gibi fizyolojik etkileri ile inflamasyon, kronik hastalıkların gelişimi gibi bir çok sistemik etkileri olduğu izlenmiştir. Vitamin sentezi, kısa zincirli yağ asitlerinin sentezi, aminoasitlerin modifikasyonu gibi (örn: Histidinden histamin, glutamattan gaba oluşması vb) metabolizma reaksiyonlarında görev alırlar. Bakteriler glikanları mono ve

disakkaritlere ayrıştırabilir. Bu sebeplerden dolayı barsak mikrobiyası karbonhidrat metabolizma genlerinden zengindir.

Barsaktaki komensal bakterilerin ürettiği başlıca yağ asitleri olan asetat, propionat ve butiratın antiinflamatuvar etkili olduğu ve kansere karşı koruyucu olduğu saptanmıştır. Ayrıca histon deasetilaz aktivitesini inhibe edip gen ekspresyonu ve histonların asetilasyonunu inhibe ederek hücre farklılaşmasını da engellerler, proinflamatuvar IL-6, TNF gibi sitokin üretimini baskırlar. Butirat histon-3 asetilasyonunu artırmak yoluyla FOXP3 ekspresyonunu artırarak ve bu sinyal yolağı ile T reg ve IL-10 salgılayan T hücreleri indükleyerek antiinflamatuvar ve antitümöral etkinlik gösterirler. Asetatın da barsak, akciğerler ve eklemlerde inflamasyonu azalttığı rapor edilmiştir (50).

Bacteroidesler komensal bakterilerin iki yönünü göstermeleri bakımından önemli oldukları düşünülür. En sık anaerob enfeksiyon etkenlerinden biri olmasına rağmen insan ve fare mikrobiyasındaki en sık cinslerden biridir. İnsan sağlığı için önemli olduğu düşünülür. Bacteroidesler ayrıca histon deasetilaz aktiviteli propionat üretirler ve böylece T reg hücre gelişiminde ve bu hücrelerin kolonda yoğunlaşmalarında etkilidir (51). Ayrıca bacteroidesler laktobasillerden daha fazla IgA üretimini indükledikleri saptanmıştır (51).

Clostridiales takımına (order) ait olan faecalibacteriumlar da antiinflamatuvar etkili olarak tanımlanmışlardır. Butirat ve IL-10 üretimini indükleyerek kolit ciddiyyetinin azaltırlar (51).

Viral enfeksiyonlar ise mikrobiyatayı, konak immun cevabı IFN' ları (interferon) içeren sitokin değişikliğı ile etkiler (49). Solunum sistemi, cilt ve barsaktaki patojenik ve non-patojenik virüslerin bakteriyel mikrobiomlar ile etkileşime geçebildikleri de tespit edilmiştir (49).

Mikrobiyatadaki dengenin bozulması olarak tanımlanan disbiyozis ise inflamatuvar barsak hastalıkları (İBH), obezite, kolorektal kanser, karaciğer hastalıkları, kardiyovasküler hastalık, sinir sistemi hastalıkları gelişimi ile ilişkili bulan çalışmalar vardır; ancak bu değişikliğın hastalıkların nedeni mi yoksa hastalıkların mikrobiyataya etkisi mi olduğu net değildir (48).

Klasik barsak mikrobiota çalışmaları kültür sonuçları üzerinden yapıldığında barsak mikrobiota üyeleri %10-30 oranında kültüre edilebilmişken son dekatlarda yeni moleküler tekniklerin (PCR, yeni nesil sekanslama, 16S r-RNA metagenomik sekanslama gibi) gelişmesi ile daha fazla türün tanımlanması mümkün olmuş ve mikrobiota ile hastalıkların ilişkisine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Bu metotlarla mikrobiota içerisinde hangi türlerin olduğu, göreceli veya belirgin baskın türlerin hangileri olduğu, bunların insan vücudunda neler yaptıkları, hangi genleri taşıdıkları, metabolik özellikleri hakkında daha net bilgiler edinilmeye başlanmıştır. Bu çalışmalarda pratikte örnek temininde tüm GİS mikrobiotasını rektal örneklerden tanımlamak önemli zorluklardan biri olarak görülmektedir.

Sistemik hastalıklarda etkileri olduğu bilinen mikrobiatanın AHKHN ve önemli komplikasyonu olan GVHH gelişimi ile bunların neden olduğu mortaliteye etkisi de üzerinde çalışılan konulardan biri haline gelmiştir.

AHKHN öncesinde kullanılan kemoterapötikler, sonrasında kullanılan immunsupresifler ve nakil sürecinde sık izlenen, ampirik veya terapotik antibiyotik kullanım nedeninin %90 dan fazlasını oluşturan nötropenik ateş ile iştah kaybı, diğer kullanılan ilaçlar özellikle barsak komensal bakterilerine zarar vererek disbiyozise neden olur. Özellikle antibiyotikler etki alanına göre bu hasara belirgin katkıda bulunur (52).

Van Bekkum ve arkadaşları 1974 de fareleri germ free (komensal ve patojen bakterilerin uzaklaştırılması) hale getirip GİS GVHH izlenmemesi, GİS GVHH patogenezinde mikrobiatanın önemli olduğunu ilk olarak göstermiştir (53).

Van der Waaj ve arkadaşları 1970 lerde kolonizasyon rezistansında anaerobların önemini tanımlamıştır (55). 1971’de Jones ve arkadaşları, AHKHN yapılan germ free farelerde barsak mikrobiota yokluğunun azalmış GVHH ve uzamış sağ kalım ile ilişkili olduğunu gösterirken (56), 1970 lerde Storb ve arkadaşları 130 aplastik anemi tanısı ile kardeşten AHKHN yapılan hastalarında barsak dekontaminasyonunun grade 2-3 GVHH’ yi azalttığını göstermişlerdir (58).

Buckner ve arkadaşları (59) GVHH insidansına profilaktik dekontaminasyonun etkisi olmadığını bildirmesine rağmen, Beelen ve arkadaşları (60) dekontamine grupta

grade 2-4 GVHH insidansın ciddi azaldığı izlenmişlerdir. GVHH önleme için barsak dekontaminasyonu yapılan bu erken klinik çalışmaların sınırlılıkları olarak çoğunun tek merkez ve retrospektif olması, dekontaminasyon yapılmayan kontrol grupların olmaması, merkezler arası dekontaminasyon rejim karşılaştırmaları olmaması, kötü hasta uyumu, detaylı barsak mikrobiota analizleri olmaması olarak yorumlanmıştır (52). On yedi prospektif randomize çalışmayı içeren bir meta analizde sistemik antibiyotik profilaksisinin febril epizodları azalttığı; fakat tüm nedenlere bağlı mortalite ve enfeksiyon ilişkili mortalitede azalma izlenmediği yönündedir (58).

Vossen ve arkadaşları akut GVHH ile barsak dekontaminasyonlarını karşılaştırdığı çalışmasında hastaları komplet ve selektif dekontaminasyon gruplarına ayırmış, dekontaminasyon başarısını selektif grupta %80, komplet grupta %28 oranında izlerken, dekontaminasyon başarısına bakmadan komplet grupta daha az GVHH izlemiştir. (%17 komplet grup, %50 selektif grupta) (61).

Taur ve arkadaşları ise engraftman zamanında bakteri çeşitlilik kaybının AHKHN sonrası üç yıl içindeki nakil ilişkili mortalite ile ilişkisini belirtmiştir (54).

Beelen ve arkadaşlarının intestinal bakteri supresyonu ile GVHH ilişkisini araştırdığı çalışmasında dekontaminasyon etkinliğini grade 1 veya non GVHH'lerde Grade 2-4 e göre belirgin yüksek izlemişlerdir. Anaerobik supresyonda grade2-4 GVHH belirgin düşük izlenirken, aeroblarda bu durum izlenmemiştir. Bu sonuçlardan, anaerobik supresyonu grade 2 -4 GVHH için önemli bağımsız risk faktörü olarak kabul edilmiştir (62). Beelen ve arkadaşları barsak kontaminasyonunu siprofloksasin ve metronidazol alanlar ile sadece siprofloksasin alanlarla karşılaştırmış ve metronidazol alanlarda anaerob örnekler daha az izlenmiş. Grade 2-4 GVHD'lerde, GVHH olmayanlar ve grade 1 GVHD'ye göre daha fazla başarısız anaerob barsak dekontaminasyonu izlenirken, metronidazol kolunda grade2-4 GVHH daha az izlendiğinin belirtilmesinden sonra siprofloksasin ve metronidazol AHKHN 'de standart kullanılmaya başlanmıştır (63).

Bu çalışmaların sonucu olarak AHKHN sırasında steril ortam, diyet, oral emilmeyen antibiyotikler ile total veya parsiyel intestinal mikrobial flora supresyonu, cilt temizliği uygulanmaya başlanmış, sonrasında yapılan çalışma sonuçları arasında

heterojenite izlenmesi ve GVHH önlemede yeterli başarıya ulaşamaması bu tekniklerin terkedilmesine yol açmıştır. Son zamanlarda gelişen tekniklerle AHKHN ile mikrobiata arasında ilişkiye yönelik çalışmalarda tekrar artış izlenmiştir. Çalışmaların çoğu mikroorganizma çeşitliliği üzerine iken bazıları özel türler üzerinde yoğunlaştırılmış, ayrıca antibiyotik çeşitleri ve grupları ile mikrobiata baskınlık, kayıpları arası ilişkiler incelenmiştir (64).

Kanada'da 500 hastada yapılan bir çalışmada AHKHN öncesi barsak dekontaminasyonun artmış grade 2-4 GVHH ile ilişkili bulunurken (65), AHKHN yapılan 80 hastanın incelendiği retrospektif bir çalışmada nötrofil engraftmanı sürecinde alınan mikrobiata örneklerindeki azalmış çeşitliliğin, yüksek çeşitliliğe göre artmış mortalite ile ilişkili bulunmuştur (66).

Enterobacteriaceae içeren Gammaproteobacteria ailelerinin barsakta belirgin baskınlığı yüksek mortalite ile ilişkili bulunurken, Lachnospiraceae ve Actinomycetacea ailelerinin baskınlığı daha iyi sonuçlarla ilişkili olduğu izlenmiştir (66).

Vankomisin ve metronidazol maruziyetinin Enterococcus cinsinin baskınlığı ile ilişkili bulunurken (67), Enterococcus ve Proteobacteria baskınlığının da bakteriyemi ve vankomisin dirençli enfeksiyon ve kolonizasyon gelişmesi için artmış risk oluşturduğu bulunmuştur (67).

Enterobacteriaceae ve Proteobacteria ailesindeki diğer gram negatif bakteriler de artmış mortalite ile ilişkili bulunurken (66), retrospektif 541 hastanın değerlendirildiği çalışmada anaerob Eubacterium limosum çoğunluğundaki bakteriler, AHKHN sonrası azalmış relaps ile ilişkili bulunmuştur (53).

Jeng ve arkadaşları fare modellerinde ve insanlarda yapılan çalışmalarda GVHH sonrası mikrobiata çeşitliliğinde azalma, Clostridialesde azalma, Lactobacilluslarda genişleme izlerken (11), Heimesaat ve arkadaşları GİS GVHH'de barsak mikrobiatasının Enterobacteria, Enterococcus, Bacteroides ve Prevotella cinslerine yöneldiğini belirtmişlerdir (68).

AHKHN yapılan hastalarda ve fare deneylerinde febril nötropeni için piperasilin tazobaktam gibi geniş spektrumlu antibiyotik ile daha dar etkili sefepim kullanımı

karşılaştırıldığında piperasilin tazobaktamda artmış GVHH ilişkili mortalite izlenmiştir (69). Geniş spektrumlu bu antibiyotik kullanımı ile Bacteroides, Lactobacillus, Clostridia gibi kommensal bakterilerde belirgin azalma izlenmiştir.

621 hastayı içeren ve antibiyotik kullanım zamanlamasının karşılaştırıldığı bir çalışmada, AHKHN ve öncesindeki yedi gün aralığında antibiyotik kullanımının önemli ölçüde Clostridiales azalması ve GVHH ilişkili mortalitede artışla sonuçlanırken (70), çalışmacılar AHKHN sırasında anaerob korunmasının gerekebileceği sonucuna varmışlar.

Yapılan çalışmaların çoğunda GVHH gelişenlerde, gelişmeyenlere göre barsak mikrobiotasında daha az Clostridiaceae ailesi bakteriler izlenmiştir (71). Bu grup clostridial bakteriler, önceden anti-inflamatuvar clostridyalar (AİC) olarak adlandırılan, Firmicutes takımından Clostridiaceae, Erysipelotrichaceae, Eubacteriaceae, Lachnospiraceae, ve Ruminococcaceae aileleri gibi geniş bir bakteri popülasyonunu içeren non patojen özelliklere sahiptirler ve baskınlıklarının İBH da iyileşmeye neden olduğu bildirilmiştir (72,73).

Sims- Waldrip ve arkadaşlarının (74) yaptığı çalışmada GVHH gelişen hastalar incelendiğinde AİC seviyelerinde düşüş izlenirken bu düşüşün anaeroblara karşı etkili olan antibiyotiklerin kümülatif maruziyeti ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Antibiyotik kümülatif kullanım süreleri GVHH olanlarda GVHH gününe kadar, GVHH olmayanlarda ortanca GVHH gelişme gününe kadar hesaplandığında, total antibiyotik ve antianaerob dozların, GVHH olanlarda daha fazla olduğu izlenmiş. Kullanılan antibiyotikler içerisinde klindamisin, GVHH gelişenlerde piperasilin tazobaktam, meropenem, metronidazol alanlara göre daha fazla kullanıldığını rapor etmişlerdir. Gayta incelemelerinde GVHH olanlarda enterokoklardan zenginleşme izlenirken, GVHH olmayanlarda AİC ler daha fazla izlenmiştir. GVHH gelişenlerde baskın olan mikroorganizmaların metabolik özellikleri incelendiğinde ise aralarında GVHH'nin de olduğu birçok hastalıkta, inflamasyonu artırdığı tespit edilen LPS sentez enzimlerin yoğun; karbonhidrat, nükleotid, aminoasit metabolizma ve enerji üretim enzimlerin ise daha az yoğunlukta oldukları saptanmış. Ayrıca GVHH izlenen hastaların mikrobiota üyelerinin antibiyotik direnç genleri daha fazlaca izlenmiş. Klindamisinin

GVHH' yi artırıp artırmadığını belirlemek için tüm farelerin levofloksasin aldığı, fakat bir grubun ek olarak klindamisin aldığı bir çalışma planlamışlar ve klindamisin alan farelerde diğer gruba göre GVHH daha fazla izlenmiştir.

AHKHN yapılan farelerdeki deneysel modellerde anti endotoksin nötralize ajan ve oral LPS inhibitörü alan grupta azalmış GVHH şiddeti, korunmuş graft versus lösemi etkisi ve tüm sağ kalımda iyileşme izlenmiştir (75,76).

GVHH gelişen farelere 17 adet AİC türü içeren probiyotik kokteyl verildiği bir çalışmada, GVHH şiddetinin hafiflediği ve farelerin barsaklarındaki AİC'ler tarafından üretildiği bilinen kısa zincirli yağ asitlerinin miktarının önemli derecede arttığı, bozulmuş intestinal epitel bileşkelerin düzelip, hücrelerde apoptozun azaldığı görülmüş (78).

Mikrobiota ile şiddetli cilt ve karaciğer GVHH arasındaki ilişkiyi açıklamak için yapılan bir çalışmada araştırmacılar bakterileri iki AİC grubu; *C.leptum* grubu ve *E.rectale* /*C.coccoides* grubu ile bir proinflamatuvar *Enterobacteriaceae* ailesi olarak üç gruba ayırmışlar. GVHH gelişende *C.leptum* grubu ve *E.rectale* /*C.coccoides* grubu daha az izlenirken, *Enterobacteriaceae* ailesi daha fazla izlenmiş (74) . AHKHN 'nde mikrobiatada belli bakteri popülasyonlarının tespitine kültür ve moleküler yöntemlere alternatif olarak kullanılabilecek biyomarker arayışı sonrası bulunan örneklerden biri, mikrobiota kaynaklı triptofan metaboliti 3-indoksil sülfat (IS)' tır. Diyet kaynaklı triptofan, komensal intestinal bakterilerdeki triptofanaz enzimi ile indole dönüştürülür. İndol absorbe olur, karaciğerde indoksil sülfata metabolize olur, sonra idrara ekskrete edilir. Gram negatiflere bakteristatik etkilidir ve antifungal aktivitesi vardır. *Candida albicans* kolonizasyonuna dirençte epitel fonksiyon regülasyonu ve lokal inflamatuvar etkilerin kontrolünde etkilidir. Düşük idrar düzeyi AHKHN sonrasında mikrobiota dengesinde bozulma ile korele bulunmuştur. Ayrıca 3-indoxyl sülfatın idrar konsantrasyonu mikrobiota dengesini indirekt marker olarak değerlendirmek ve AHKHN sonuçlarında prediktif değer olarak kullanılabileceği izlenmiştir (64) .

Son çalışmalar intestinal mikrobiota çeşitliliğinde azalmanın ve özellikle komensal *Clostridiales*lerin sadece akut GİS GVHH patogenezinde etkili olmadığını,

transplantasyon ilişkili mortaliteyi de artırdıklarını göstermiştir (11). Shono ve arkadaşları (50) GİS GVHH insidansının ve GVHH ilişkili mortalitenin aztreonam ve sefepim kullanımına göre piperasilin tazobaktam veya imipenem silastatin kullanımı ile arttığını izlemişlerdir. Bu çalışmada “anaerob bakterileri koruyarak faydalı bakteri azaltımı minimize edilebilir mi?” ve “ciddi GVHH riski azaltılabilir mi?” sorularına cevap olarak nakil öncesi 7. Gün ile nakil sonrası 28. Gün arasında alınan toplamda on iki antibiyotiğe ve GVHH ilişkisine bakılmış. Çalışmanın yapıldığı merkezde febril nötropenide ilk basamakta piperasilin tazobaktam kullanılırken ikinci basamak da imipenem kullanılmış. Bu iki antibiyotiğe alerjik olanlarda ise aztreonam ve sefepim kullanılmış. Antibiyotikler içerisinde en çok piperasilin tazobaktam ve imipenem GVHH ve GVHH ile ilişkili mortalite ile korele bulunurken, tüm sağ kalımlarda fark izlenmemiş. Piperasilin tazobaktam ve imipenem alanlarda hem grade 2-4 GVHH hem de üst ve alt GİS GVHH de daha fazla izlenmiş. Aztreonam ve sefepim kullananlarda ise GVHH de artış izlenmezken, GVHH nedenli mortalite azalmış olarak izlenmiş. Bu sonuçlar piperasilin tazobaktam ve imipenemin zorunlu anareoblara yüksek etkinlikte olup aztreonam ve sefepimin daha düşük etkinlikte olmasına bağlanmış. Bu retrospektif gözlemi mikrobiyata içerecek şekilde tekrarlamak için fare deneyi yapılmış. İmipenem alan farelerde Clostriales yoğunluğunda azalma izlenip, Enterococcus ve Erysipelotrichia da artış izlenirken, aztreonam ve sefepim alan farelerde Clostrialeslerin korunduğu izlenmiş. Piperasilin tazobaktam alan farelerde ise ikinci antibiyotik günü sonunda DNA elde edilebilecek bakteri izlenememiş. Piperasilin tazobaktam ve imipenem alan farelerde GVHH daha şiddetli şekilde izlenmiş. Farelerin kolonları incelendiğinde imipenem alan farelerin kolon lamina propriada donör CD4 T lenfosit (foxp3 -) ler, nötrofiller, B lenfositler daha fazla izlenirken CD8 T lenfositlerde fark izlenmemiş. Ayrıca bu farelerin kolonunda GVHH gelişiminde önemli mediatör olarak bilinen proinflamatuvar IL-23 daha fazla saptanmış (80,81). İmipenem alanlarda aztreonama göre Clostridialeslerde azalma ve Akkermensia municipihila da artış görülürken, piperasilin tazobaktam alanlarda ise Bacteroides, Lactobacilluslarda büyük kayıp izlenmiş. Clostrialesler kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) ana üreticileri olduğu düşünüldüğünde, imipenem ve aztreonam

alanlarda KZYA lerinde farklılık izlenmemiş. İmipenemle tedavi edilenlerdeki bakterilerin de proinflamatuvar özelliklerde artışla sonuçlanan LPS sentez enzimlerinde artış, D-alanin metabolizma enzimlerinde de azalma görülmüş.

Akkermensia municipihila mukozayı karbonhidrat kaynağı olarak ayrıştırabilen bir bakteridir ve bu bakterilerde mukus degradasyonu yapabilen bir çeşit sülfataz ve glikozil hidrolazlar tanımlanmıştır (82). İmipenem alan farelerin kolon mikrobiyasında da bu enzimlerde artış izlenirken, imipenemle tedavi edilenlerde, aztreonam kullananlara göre PAS boyası ile mukus tabaka kalınlıkta azalma izlenmiş. Goblet hücrelerde fark izlenmemesi bunun, mukus üretiminde fark olmayıp mikrobiota etkileriyle olduğu olarak yorumlanmıştır. İmipenem alanlarda bakterilerin mukus tabakayı aşıp yayıldıkları izlenirken aztreonam alanlarda bu etki izlenmemiş. Floresan isotiosiyanat dextran az emilen bir karbohidrattır ve epitel bariyer hasarında kanda fazla miktarda izlenmesi beklenir. İmipenem alanda bu madde tedavinin beşinci gününde kanda daha fazla izlenmiş (69).

Weber ve arkadaşları (70) ise rifaksimmin kullanımının siprofloksasin ve metronidazole göre daha az tedavi ilişkili mortalite ve AHKHN sonrası on iki ayda daha uzun tüm sağkalım ile ilişkisini saptamışlar. Bu çalışmada hastalar nakil öncesi yedinci günden nakil gününe kadar ve nakil sonrası antibiyotik alanlar ile profilaksi dışında antibiyotik almayanlar olarak da ayrıca gruplandırılmış. Önemli anaerob komensallerden olan Clostridiales baskınlığı ile idrar IS düzeyi arasında pozitif ilişki saptanmış. Başlangıçta hastaların idrar IS düzeyleri arasında fark yokken erken antibiyotik alan grupta daha fazla olmak üzere antibiyotik alanlarda ve profilaksi dışı herhangi bir antibiyotik almayan gruplarda da idrar IS düzeyleri azalmış. Bu çalışmanın diğer kolunda gayta mikrobitesi 16S r RNA ile değerlendirildiğinde erken antibiyotik alan gruba göre geç antibiyotik alan grupta Clostridialesler daha yüksek izlenmiş. Antibiyotik almayan donör grubunda ise düzeyler en yüksek seviyede izlenmiş.

Rifaksimmin alan hastalarda da erken antibiyotik alanlarda da 16s RNA ile daha az Clostridium 14 küme üyelerinin kopyası saptanmış. Nakil ilişkili mortalite ve tüm sağ kalımlar erken grupta daha fazla izlenirken, profilaksi dışı antibiyotik

almayanlarda daha az izlenmiş. Ayrıca erken antibiyotik alan grupta, geç antibiyotik grubu ve profilaksi dışı antibiyotik almayan gruba göre akut ve kronik GVHH nedeni ölüm daha fazla izlenmiş. Bu çalışmada anaerobik clostridialese karşı etkili antibiyotiklerin GVHH ilişkili mortaliteyi artırdığını desteklediği, sadece antibiyotik çeşidi değil aynı zamanda antibiyotik kullanım zamanlamasının da önemli olduğuna dikkat çekilirken; erken antibiyotik kullanımı ile yararlı Clostridiales gibi bakterilerin kaybının, donör T lenfosit ile GİS mukoza buluşma öncesi, zararlı sonuçlara sebep olabileceği de öne sürülmüş (70).

Rifaksimmin tüm barsak mikrobiota çeşitliliğine daha az etki ettiği, bakteri virulan faktör ekspresyonunu azalttığı, intestinal mukoza bakteri ataşmanını ve proinflatuar sitokin salımını azalttığı literatürde belirtilmiştir (83). Maccefferi ve arkadaşları rifaksimminin kolonik mikrobiyatayı tümünden etkilemediği, hatta potansiyel koruyucu cinslerden olan Actinobacterialardan Bifidobacterium atopobium ve clostridium 14 kümesinden Faecalibacterium praustitzi'yi artırdığı izlenmiş (63). Rifaksimmin ayrıca kısa zincirli yağ asitlerini de artırdığı (63), mikrobiota ve GİS hücrelerini pregnan-x reseptör (ilaç taşınması ve metabolizmasında görevli) ile modüle ettiği, IL-6 serum seviyesinde azalmaya neden olduğu saptanmış (61).

Kullanılan antibiyotiklerin nakil öncesi ve sonrası mikrobiota çeşitliliğine etkisinin incelendiği bir çalışmada (53) piperasilin tazobaktam ve meropenem kullanımı ile mikrobiota çeşitliliğinde azalma izlenmiş. Erken örneklerde çeşitlilik fazla iken sonraki örneklerde çeşitlilikte azalma ve düşük yoğunlukta Enterokok, Klebsiella, Echerichia, Stafilokok, Streptokok baskınlığı izlenmiş. Enterokok baskınlığı, vankomisin rezistan enterokok (VRE) bakteriyemisi ve GVHH için artmış yüksek risk olarak değerlendirilmiş. Nakil öncesi 30 ve 6. Günler arası alınan örnekler sağlıklı kontrol grubundan alınan örneklerle karşılaştırılmış ve hastalardaki çeşitlilik, sağlıklılara göre nakil öncesinde de daha az izlenmiş.

Florokinolon profilaksisi alan hastalarda, penisilin veya karbapenem alanlar ile glikopeptit kullanımının karşılaştırıldığı bir çalışmada ise glikopeptit kullanımına göre, penisilin ve karbapenem kullanımı ile GİS GVHH arası anlamlı ilişkili bulunmuş. Ayrıca penisilin sonrası karbapenem kullanımının da GVHH için risk olduğu saptanırken,

penisilin ve karbapenem kullananda glikopeptit eklenmesinin da GVHH riskini artırdığı bildirilmiş. Mikrobiota ve GVHH ilişkisinin de araştırıldığı bu çalışmada mikrobiota hasarının genişliği, mikrobiota çeşitliğinde azalma ile GVHH ve AHKHN sonrası mortalite artışı ilişkili bulunmuş (84). *Blautia* cinsinin kaybı, *Lachnospiraceae* ve *Ruminococcaceae* aileleri ile yakın akraba *clostridia* sınıf kaybını GİS GVHH ile ilişkili bulmuşlar (85-86).

Başka bir çalışmada ise karbapenem yedi günden fazla alımın GİS GVHH için risk olduğu belirlenmiş. Fakat kötü tüm sağ kalım ve yüksek nakil ilişkili mortalite ile ilişki bulunamamış (78).

K. Nishi ve arkadaşlarının (87) yaptığı çalışmada dördüncü kuşak sefalosporinlerle grade2-4 GVHH gelişme riski arası ilişki bulunurken piperasilin tazobaktam ve karbapenemlerde bulunmamış. Dördüncü kuşak sefalosporin alanlarda almayanlara göre GİS GVHH gelişiminde anlamlı fark varken karaciğer, cilt GVHH de fark izlenmemiş. Antibiyotik kombinasyonlarında dördüncü kuşak sefalosporine başka antibiyotik eklenince GVHH’de artma izlenirken, başka antibiyotik kombinasyonlarda izlenmemiş ve dördüncü kuşak sefalosporin- GVHH ilişkisi kullanım zamanı ve süresi açısından fark olmadan izlenmiş. Daha önceki çalışmalardaki piperasilin tazobaktam ve karbapenem kullanımının GVHH gelişmesinde etkili bulunup, dördüncü kuşak sefalosporinlerin etkisiz bulunması ile olan farkı, antibiyotik kullanımı ve ırklar arası barsak mikrobiota farkıyla açıklamışlar. Dethlefsen ve arkadaşları aynı anibiyotiklerin tekrarlayan kullanımına bağlı barsak mikrobiota hasarının kalıcı bakteriyel şiftilere neden olduğunu belirtmiş (88). Bu merkezde hasta gruplarındaki akut lösemi yoğunluğuna bağlı olarak dördüncü kuşak sefalosporinlerin dekonsolidasyonda sık kullanılmasının, bu grup antibiyotiklerin kalıcı mikrobiota hasarı yapmış olabileceği şeklinde yorumlamışlar.

Hu ve arkadaşları da ırklar arasında barsak mikrobiota direnç geni sayı ve çeşidinin farklılık gösterebileceğini göstermişlerdir (89).

AHKHN yapılan hastalarda metisilin dirençli *Stafilacoccus aureus*, genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) üreten *Enterobacteriaceae*, vankomisin dirençli *Enterokok* (VRE) , karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* gibi dirençli bakteriler ile

kolonizasyonun GVHH'ye etkisini inceleyen bir çalışmada (90) grade2-4 GVHH, dirençli bakteri kolonize grupta iki kat daha sık izlenmiş. Kolonize grupta akut GİS GVHH daha fazla izlenirken, kronik GVHH açısından fark görülmemiş. Kan kültür pozitifliği kolonize grupta iki kat daha sık izlenmiş. ESBL pozitif Klebsiella pnömoni kolonizelerde daha sık bakteriyemi görülürken, VRE pozitiflerde bakteriyemi açısından fark izlenmemiş. Çalışmada dirençli bakterilerle kolonize hastalar daha fazla linezolid alırken, kolistin ise karbapenem dirençli grupta daha fazla alınmış. Kolonize grupta tüm sağ kalım daha düşük izlenmiş; fakat daha yüksek relaps ilişkili mortalite izlenmiş. Bu sonucu da tedavi edilmesi zor enfeksiyon izlenmesine bağlamış araştırmacılar. Relaps insidansı açısından kolonize olmayan ve olan grup arasında fark izlenmemiş.

Mikrobiatanın AHKHN sonrası GVHH gelişimine sebep olduğu belirtilmesi ve febril nötropeni gibi durumlarda antibiyotik kullanımının kaçınılmaz olması üzerine, gelişen disbiyozisi düzeltmek için prebiyotik, probiyotik ve fekal mikrobiota transplantasyonu gibi çeşitli stratejiler planlanmıştır.

Farelerde yapılan bir deneyde nakil sonrası yedinci günde barsak dokusunda butirat azalmış izlenirken gastrik lavajla butirat verilmesinin intestinal epitel hücrelerini düzelterek GVHH şiddetini yatıştırdığı gözlemlenmiştir (91).

Farelere nakil öncesi 21 ile 14. günler arası ampisilin verildiğinde Blautia kaybı ile Enterokok artışı izlenmiştir. Ampisilin sonrası Lactobasillus johnsonii verilince verilen bakteri kolonda baskın tür halde gelmiş, Enterokok artışı izlenmemiş ve Lac. johnsoni verilmeyene göre daha az ciddi GVHH gelişmiştir (11). Başka bir çalışmada Laktobasillus rhamnosus verilmesi ile akut GVHH de düzelme izlenmiştir (92).

Ladas ve arkadaşları (93) pediatrik hastalara, nötropeni ve mukozal hasarın beklendiği naklin erken fazında (-8 ile +14. günler arasında) probiyotik olarak Lactobacillus plantarum vermişler ve naklin 28. gününde hiçbir hastada Lactobacillus plantarum bakteriyemisi gelişmemiş. GVHH %30 hastada gelişmiş; fakat hastaların %60 ına GVHH riski fazla olan akraba dışı nakil yapılmış. Bu grupta steroid dirençli GVHH gelişenlere sağlıklı donörlerden fekal mikrobiota nakli (FMT) yapılmış. Üç steroid dirençli ve bir steroid bağımlı GVHH hastaları olan çalışmalarında, hiçbir

hastada yan etki gelişmemiş. Üç hastada komplet remisyon izlenmiş. Fekal mikrobiota naklinden 28 gün sonra bu hastaların barsaklarında Bacteroides, Lactobacillus, Bifidobacterium, Faecalibacteriumlar baskın olarak izlenmişler. Bir hasta önce FMT'ye yanıt vermiş; ama sonrasında GVHH kötüleşmiş. Bu hastanın mikrobiotasında ise E. coli diğerlerine göre daha fazla izlenmiş.

Spindleboeck ve arkadaşları ise fekal mikrobiota nakli ile tedavi edilen üç hastasında dirençli barsak GVHH izlemiştir. Üç hastada ilk FMN sırasında ciddi GVHH izlenirken tüm hastalar tekrarlanan FMT'ye cevap vermiş. İki tam ve bir kısmi remisyon izlenen hastalarda bakteriyemi, sistemik enfeksiyon izlenmemiş (94).

Clostridium difficile enfeksiyonu izlenen AHKHN yapılan hastalarda FMT denendiği, az hasta sayılı bir çalışmada bir hastada GVHH geliştiği diğer hastalarda ciddi yan etki izlenmediği bildirilmiştir (95,96).

Tüm bu çalışmalar mikrobiota üyelerinin antibiyotik kullanımı gibi nedenlerle bozulmasının GVHH, hastalık relapsı ve bunlara bağlı mortaliteye etkisini gösterirken, mikrobiota bozulmasının çeşitli stratejilerle düzeltme çabalarının disbiyozis ve neden olduğu düşünülen GVHH, relaps ve mortaliteye olumlu etkilerini gözler önüne sermektedir.

2.3. Kalprotektin ve GVHH ilişkisi

Benzer semptomlara sahip olan; fakat ciddiyet ve tedavi şekilleri farklı olan inflamatuvar barsak hastalığı (İBH) ve irritabl barsak sendromu (İBS) ayırımında barsaklarda gelişen inflamasyonu tanımlamak için gastroenteroloji pratiğinde yaygın kullanılan kalprotektin, kalsiyum-çinko bağlayan bir proteindir ve ilk lökositlerden elde edilmiştir (97). Nötrofil sitozolik içeriğin %60'ını oluşturur. Nötrofillerden başka monosit ve makrofajlarda ve tüm vücutta ağırlıklı olarak plazma, idrar, beyin omurilik sıvısı (BOS), tükürük, gayta ve sinovyal sıvıda bulunur (97).

Kalprotektin 36,5 kilo dalton (kda) ağırlıkta, iki hafif ve bir ağır subunitten oluşur. Kodlandığı genler kromozom 1q21'dedir. Hücre diferansiasyonu, immun regülasyon, tümörögenез, apoptoz ve inflamasyon gibi olayların fizyopatogenезinde görev alır (98). İnflamasyon sırasında önemli görevleri vardır ve akut faz reaktanı

olarak tanımlanabilir. Nötrofillerin migrasyon, adezyon ve fagositozdaki reseptörlerinin indüklenmesi, kemotaksi desteklenmesinde ve hasar ilişkili moleküler patern (DAMPs) olarak immun cevapta yer alır (99).

Düzeyleri intestinal inflamasyon ile iyi korelasyon gösterir (100). Gastrointestinal sistem (GİS) inflamasyonunda fekal düzeyi serum düzeyinden ortalama altı kat daha yüksektir ve inflamasyonu göstermede daha üstündür. Barsaklarda gelişen inflamasyonda fekal düzeyin artması inflamasyon bölgesine nötrofillerin göç etmesi ve hasarlı mukozadan nötrofil ve nötrofil içeriğinin barsak lümenine ve gaytaya ulaşması ile açıklanır. Nötrofillerden kalprotektin ekskresyonunun, 111 indium işaretli granülosit ekskresyon testi ile korele olduğu gösterilmiştir.

Kalprotektin intestinal pankreatik enzimlere, proteazlara ileri derecede dirençlidir (97). Gaytada proteolitik işleme maruz kalmaz ve oda ısısında da 3-7 gün stabil kalabilir.

Konsantrasyonundaki değişkenlik klinik önemini azaltmaz, diyet değişikliklerinden etkilenmez.

Düzenli nonsteroid anti inflamatuvar ilaç (NSAİ) kullanımı enteropatiye yol açarak bazı kişilerde fekal kalprotektin konsantrasyonunu etkiler, bu nedenle kalprotektin örnek alım haftalar öncesi NSAİ kesilmesi önerilir.

Düzeyi Elisa ile ölçülür. Gelişen tekniklerle ölçümlerde artık monoklonal antikolar kullanılmaktadır. Bazı çalışmalarda semikantitatif ve kalitatif hasta başı ölçümlerin Elisa ile karşılaştırılabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur.

Normal değeri <50mcg/gr gayta kabul edilmekle birlikte, bu düzeyler sağlıklı insanlarda yaşa bağlı belirgin değişkenlik gösterebilir. Pediatrik yaşta daha yüksek değerler ölçülür. Özellikle beş yaş altında normal seviyeler daha yüksektir; bu yükseklik de, muhtemelen artmış intestinal mukoza geçirgenliği gibi intestinal mukozadaki yetişkinlere göre olan farklılıklardan kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmaktadır (97).

Yaşa göre normal değerleri 2-9 yaş çocukta: <166mcg/gr, 10-59 yaş arasında: <51 mcg/gr, 60 yaş üzerinde: <112 mcg/gr olarak kabul edilir (101).

İnflamatuvar barsak hastalığı tanısı ve takibinde kullanılacak standart değeri saptamak için pek çok çalışma yapılmıştır. Yedi çalışmanın analiz edildiği bir meta analizde eşik değeri 50mcg/gr alınca sensitivite %93 spesifite %94 olarak saptanmıştır (101).

Sipponen ve arkadaşları fekal kalprotekrin (FK) düzeyleri ile endoskopik Crohn hastalık şiddet indeksini karşılaştırmış ve 200mcg/gr da sensitiviteyi %70 spesifiteyi %94 bulmuşken (102), D'Haens ve arkadaşları ise 250mcg/gr üzerinde büyük ülserler saptanmasında spesifiteyi %79 sensitiviteyi %60, 250mcg/gr altında endoskopik remisyon saptamada sensitiviteyi %94 spesifiteyi %62 olarak bulmuşlardır (103).

Schoepfer ve arkadaşları eşik değeri 57 mcg/gr alınca, endoskopik aktif hastalıkta sensitivite %91, spesifite%90 izlenmiştir. Relaps riski için de 250 ve 300mcg/gr değeri sınır değeri belirlemişlerdir (104).

Aggarwal ve arkadaşları, fk düzeyleri ile kapsül endoskopi bulgularını korele bulmuş ve Crohn hastalığı ince barsak tutulumunda kullanılabileceğini belirtmişlerdir (105).

Semptomu olmayan ve yüksek fk düzeyi olan İBH hastalarında altı ay içinde %80 relaps riski olduğu saptanmıştır (106).

Fekal kalprotektin değerin spesifitesi, sensitivitesine göre düşüktür, çünkü kronik enfeksiyonlarda, poliplerde de seviyeleri artmış izlenebilir. Eşik değeri olarak belirlenmiş net bir değeri yoktur; fakat genel olarak kabul gören 50mcg/gr altını normal, 50-100 arasını hafif pozitif, 100mcg/gr üzerini yüksek pozitif saymak yönündedir. Yeni tanı İBH 'da genelde fk değerleri 1000 mcg/gr üzerindedir ve tedaviye cevap ile bu değerler 500 mcg/gr altına inmesi beklenir.

İBH tanısı ve takibinde kullanılan fekal kalprotektin düzeyinin AHKHN yapılan hastalarda GİS GVHH tanısında, tanı için gerekli olan ve her zaman uygun anda yapılması mümkün olmayan endoskopi ve kolonoskopinin yerine kullanılıp kullanılamayacağı fikri doğmuş, tedaviye cevabı takipte fekal kalprotektinin yeri araştırılmıştır.

Metafuni (108), Bastos (109), Broglie ve arkadaşları (110) fk seviyesi ile GİS GVHH arası belirgin ilişki saptamışlar ve akut GVHH'de taramada biyomarker olabileceğini düşünmüşler.

O'meara (111), Adam (112) ile Chiusolo ve arkadaşları (113) da GİS GVHH de fk düzeylerini GİS dışı GVHH lerden yüksek bulmuşlardır (107).

Chiusolo ve arkadaşları ise enfektif kolitte GİS GVHH' den daha düşük fk seviyesi izlerken (113) Adam ve arkadaşları CMV kolite göre GİS GVHH ile fk düzeylerini daha korele izlemişlerdir (112).

Metafuni ve arkadaşları ayrıca grade 3-4 GİS GVHH'de fk düzeylerini grade 1-2 ye göre belirgin yüksek izlemişler (108), Lorenz ve arkadaşları da benzer sonuçlar izlemekle birlikte, ayrıca endoskopik ve histolojik bulgularla fk düzeyi arası korelasyon saptamışlardır (113). Broglie (110), Rodriguez (115) ve arkadaşları da steroid dirençli GİS GVHH' lerde yüksek fk seviyeleri izlemişlerdir.

GİS GVHH'lerin ve tedaviye yanıtlarının değerlendirildiği bir çalışmada steroid dirençli GİS GVHH olgularında eşik değer 50 mcg/gr altı alındığında steroid cevaplı GİS GVHH lere göre yüksek izlenmiştir (110).

GİS GVHH'lerin değerlendirildiği bir çalışmada (112) fk eşik değer 25mcg/gr olarak alındığında, Grade 1 GİS GVHH'de fk düzeyi cilt GVHH ve CMV koliti olanlara göre anlamlı şekilde yüksek izlenmiş. GİS GVHH'ler şiddetine göre aralarında karşılaştırıldığında ise Grade 3 ve 4 GİS GVHH'de grade 1 ve 2 ye göre fk düzeyi anlamlı derecede yüksek izlenirken, grade 1 -2 GİS GVHH arası ve grade 3-4 GVHH arasında fk düzeyleri arası anlamlı farklılık bulunmamıştır. Cilt GVHH olanlar ile GVHH geliştirmeyenler arasında da fk düzeyler arasında fark saptanmamıştır. Fk eşik değeri 96 mcg/g alınca sensitivite %92 spesifite %90 olarak hesaplanırken, akut GVHH başlangıcında fk düzeyi ile abdominal kramp, diare, gayta aciliyet derecesi arası korelasyon izlenmiş. Tedavi (steroid) sonrası fk seviyelerindeki düşüş grade 3 ve 4 de daha fazlaymış. Ayrıca fk düzeyleri ile üst GİS tutulum düşündürtecek bulantı, kusma, epigastrik ağrı gibi semptomlar arası ilişki de saptanmamış.

GİS GVHH de alfa-1 antitripsin ve fk düzeyleri arası ilişkinin incelendiği diğer bir çalışmada (114) fk eşik değeri 100mcg/g alınmış ve GİS GVHH ciddiyeti ile fk değeri

arası ilişki bulunurken alfa-1 antitripsin düzeyleri arası anlamlı ilişki bulunmamış. Ayrıca karaciğer GVHH gelişenlerde de bu çalışmada fk değerlerinde de artış izlenmiş.

Eşik değerin 100mg/kg alındığı diğer bir çalışmada GİS GVHH olanlarla olmayanlar karşılaştırılmış ve negatif prediktif değeri %100 olarak izlenmiş. Eşik değeri 250 mcg/g alındığında CMV kolitten ayırım yapılabilmüş ve sensitivite %83 spesifite %90 olarak saptanırken, eşik değeri 450 mcg/g alınca pozitif prediktif değeri %100 izlenmiş. Ayrıca bu çalışmada da Grade 3-4 GİS GVHH de, grade 1-2 den daha yüksek fk düzeyleri izlenmiş (109).

GİS GVHH gelişenleri öngörmek için yapılan bir araştırmada GİS GVHH gelişenler ile gelişmeyenlerin hastane kabulündeki fk düzeyleri arasında fark saptanmamış (116).

Fekal ve serum kalprotektin düzeylerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada ise GİS GVHH olanlarda fekal ve serum kalprotektin düzeyleri GİS GVHH olmayanlara göre yüksek izlenirken sadece fk düzeylerdeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş, serum kalprotektin seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmamış (108).

3. GEREÇLER VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Protokolü

Çalışmamız retrospektif ve prospektif olmak üzere iki kısım olarak planlandı. Retrospektif kısımda 03/2015 ve 01/2020 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'nda allojenik kök hücre nakli yapılan hastaların 03/2015 ve 03/2020 arasındaki dosyaları incelenirken, prospektif kısımda 05/2019 ile 01/2020 tarihleri arasında allojenik kök hücre nakli yapılan hastalardan alınan gayta örnekleri toplandı. Gayta örneklerinden kalprotektin seviyeleri bakılması planlandı.

Çalışmaya başlamadan önce Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı (Tarih:25/02/2019, Karar no: 04-303-19) alındı. Retrospektif kısım için 03/2015 ile 01/2020 tarihleri arası allojenik kök hücre nakli yapılan, hastane arşivinde hemşire gözlem, doktor order bilgilerine ulaşılabilen 190 hasta dahil edilirken, prospektif kısım için 18 yaş üzerinde allojenik kök hücre nakli yapılan ve çalışmaya gayta örneği vermeyi kabul eden 33 hasta dahil edildi. Gayta örneği vermeyi kabul eden hastaların bilgilendirilmiş gönüllü olur formu ile onamları alındı.

3.2. Yöntem ve Veri Toplama

3.2.1. Retrospektif Çalışma

Çalışmanın retrospektif kısmında incelenen 190 hastanın bilgileri hastane elektronik veritabanı (Avicenna) ve arşiv dosyalarından elde edildi. Hastaların demografik özellikleri, tanıları, donör özellikleri, nakil tarihleri, ilk 100 gün içindeki kültür üremeleri, sağ kalım durumları, GVHH gelişme günleri, relaps, remisyon durumları, nakil poliklinik kontrollerdeki reçeteleri elektronik ortamdan kaydedildi. Hastaların nakil hazırlık rejim başlangıç gününden nakil sonrası 100. güne kadar Hematoloji Bilim Dalı Kemik İliği Transplantasyon Servis takiplerindeki hemşire gözlem notları ve doktor order notlarından, ateş, febril nötropeni atakları ve sayıları,

mukozit varlığı ve derecesi, diare varlığı ve süreleri, kullanılan antibiyotikler, antibiyotik kullanım süreleri elde edildi.

Hastaların nakil endikasyonu olan tanıları akut lösemiler, kronik myeloproliferatif hastalıklar, lenfoproliferatif hastalıklar ve diğer hastalıklar olarak dört gruba ayrıldı. Akut lösemiler grubuna akut myeloid lösemi (AML), akut lenfoblastik lösemi (ALL) ve myelodisplastik sendrom (MDS); lenfoproliferatif hastalıkları grubuna lenfomalar, kronik lenfositik lösemi; kronik myeloproliferatif hastalık grubuna primer myelofibrozis, kronik myeloid lösemi (KML); diğer hastalıklar grubuna da aplastik anemi, immun yetmezlik sendromları, paroksizmal nokturnal hemoglobinüri (PNH) dahil edildi.

Hastalardan nakil hazırlık rejim başlangıcından nakil sonrası 100. güne kadar alınan kültürleri kan, kateter, idrar, solunum yolu ve gayta kültürü olarak ayrı değerlendirildi, kültürlerde üreyen mikroorganizmalar gram (gr) pozitif aerob bakteriler, gr negatif enterik bakteriler, gram negatif nonfermantatif bakteriler ve mantar olarak dört gruba ayrıldı. Üreme sonuçları ve üreyen mikroorganizmalar ile GVHH arasında ilişki araştırıldı.

Hastalarda gelişen GVHH akut ve kronik olarak ayrılırken, akut GVHH ilk görülme tarihi nakilden sonraki 100 gün içinde ve nakil 100 gün sonrasında olarak ikiye ayrıldı. Akut ve kronik GVHH de tutulan organlar cilt, gastrointestinal sistem (GİS), karaciğer, oral, göz ve akciğerler olarak ayrıca değerlendirildi. İlk 100 gün içinde gelişen akut GVHH günleri tespit edilerek her bir akut GVHH öncesinde kullanılan antibiyotikler not edilerek GVHH ile antibiyotik kullanım ve kullanım süresi arasındaki ilişki araştırıldı.

Kullanılan antibiyotikler baskın özelliklerine göre aerobik etkililer, anaerobik etkililer ve glikopeptidler olarak üç gruba ayrıldı. Aerobik etkili antibiyotikler grubuna levofloksasin, siprofloksasin, amikasin, kolistin, amoksisilin, moksifloksasin; anaerobik etkililer grubuna piperasilin tazobaktam, meropenem, imipenem, metronidazol, tigesiklin, fosfomisin, linezolid; glikopeptit grubuna teikoplanin, vankomisin ve daptomisin dahil edildi. Nakil planı ile hastane yatışından nakil sonrası 100. güne kadar kullanılan antibiyotikler, Hematoloji Bilim Dalı Kemik İliği

Transplantasyon Servisi veya Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi diğer bölümlerde yatışlardaki orderlardan, taburculuk sonrasında ise Kemik İliği Transplantasyon Poliklinik kontrolleri sırasında düzenlenen reçeteler ve poliklinik notlarından takip edildi. Kullanılan antibiyotikler gruplar ve kullanım günü olarak kaydedildi. Hastaların bu notlarda izlenmeyen antibiyotikleri bilinemediğinden dahil edilemedi.

3.2.2. Prospektif Çalışma

Çalışmanın prospektif kısmında ise retrospektif kısımda da yer alan 05/2019 ve 01/2020 tarihleri arasında AHKHN olan otuz üç hasta değerlendirildi. Hastalardan nakil 0. günü, 1. günü, 7. günü, 14. günü, 21. günü, 35. günü, 49. günü, 63. günü olmak üzere toplamda sekiz gayta örneği toplandı. Kontrol grubu kendi içinde olacak şekilde nakil sonrası 100. Güne kadar akut GİS GVHH gelişen hastalar ile gelişmeyen hastaların gayta örneklerindeki kalprotektin düzeyleri karşılaştırılması ve kalprotektin düzeylerinin GİS GVHH tanı ve öngörme gücü incelenmesi planlandı. GİS GVHH gelişim günü veya bir günü geçmemek üzere en yakın gündeki C-reaktif protein (CRP) düzeyleri de kaydedildi.

Gayta kalprotektin düzeyi oda sıcaklığında 4-7 gün, +4 santigrad derecede 28 gün ve -80 santigrad derecede uzun sürede etkilenmediğinden, hastalardan alınan gayta örnekleri üç gün içinde ependorf tüplerine alınarak Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbn-i Sina Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda -80 santigrad derecede muhafaza edildi. İlk gayta örneği 16/05/2019 tarihinde, son gayta örneği ise 15/03/2020 tarihinde alındı.

Son örnek alındıktan sonra gayta örnekleri sandviç yöntem kullanılarak EPİTOPE Quantitative Fecal Calprotectin ELİSA Kit ile çalışılarak kalprotektin düzeyleri ölçüldü.

3.3. İstatistiksel Analiz

Sürekli verilere ilişkin tanımlayıcı istatistiklerde Ortalama Standart Sapma, Ortanca, Minimum, Maksimum değerleri, kesikli verilerde ise yüzde değerleri verildi.

Verilerin normal dağılıma uygunluğunun incelenmesinde Shapiro Wilk testinden yararlanıldı

Antibiyotik kullanım günlerinin ki gruplu bağımsız değişkenlerle (AGVHH, AGVHH sayısı, ilk 100 günde AGVHH gelişme) karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi, nominal değişkenlerin grup karşılaştırmalarında (çapraz tablolarda) Ki-Kare ve Fisher's Exact test kullanıldı.

Antibiyotik kullanım günlerinin AGVHH gelişenleri , AGVHH sayısının 1 den fazla olanları , ilk 100 günde AGVHH gelişenleri ayırmadaki gücü ROC Eğrisi altında kalan alan (AUC) ile değerlendirilirken, en iyi kesim noktası Youden's İndeks kullanılarak hesaplandı.

Değerlendirmelerde IBM SPSS Statistics 20 programı kullanılmış ve istatistiksel anlamlılık sınırı olarak $p < 0,05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. GVHH- Antibiyotik İlişkisi

4.1.1. Hastaların Genel Özellikleri

Çalışmamıza 03/2015 ile 01/2020 tarihler arasında AÜTF Hematoloji Bilim Dalı'nda allojenik kök hücre nakli yapılan ve 03/2015-03/2020 tarihleri arasında takipleri yapılan 78 kadın (%41.1), 112'si erkek (%58.9) 190 hasta dahil edildi. Hastaların yaşları 18 ile 69 yaş arasında değişmekte olup, ortalaması 42.88 ± 11.10 idi. 65 yaş üstü 6 hasta (%3), 60 yaş üzeri 25 hasta (%13.2) olması üzerine istatistiksel anlamlı karşılaştırılma yapılabilmesi için 60 yaş üstü ve altındakiler değerlendirmeye alındı.

Hastaların tanıları incelendiğinde 135'inin (%71.1) akut lösemi, 24'ünün (%12.6) lenfoproliferatif hastalık, 19'unun (%10) kronik miyeloproliferatif hastalık (KMPH), tanısı olduğu görüldü. İmmün yetmezlik, aplastik anemi, PNH tanılarını içeren diğer grup adı altında, 12 hasta (%6.3) olduğu izlendi. Akut lösemi tanılı 135 hastanın 87'si (%64.4) akut miyelod lösemi (AML), 36'sı (%26.7) akut lenfoblastik lösemi (ALL), 12'si (%8.9) ise miyelodisplastik sendrom (MDS) idi.

Hastaların 45'i (%23.7) ilkbahar, 55'i (%28.9) yaz, 51'i (%26) sonbahar, 39'unun (%20.5) kış mevsiminde nakil olduğu görüldü.

Donörler incelendiğinde, hastaların 70'inin (%36.8) donör tipi akraba uyumlu verici (akraba), 99'u (%52.1) akraba dışı uyumlu donör (matched unrelated donor=), 21'inin (%11.1) haploidentik (yarı uyumlu) donörü oldukları saptanırken, 112 (%62.1) hastanın donör cinsiyeti erkek, 78 (%37.9) hastanın donör cinsiyeti kadın olarak saptandı. Donör ve hastaların 96'sinde (%50.5) cinsiyet uyumsuzluğu, 92'ünde (%42.2) kan grubu uyumsuzluğu görüldü. Hastaların 130'una (%68.4) ablatif, 60'ına (%31.6) azaltılmış yoğunlukta (red-int) hazırlama rejimi ile AHKHN yapıldı.

Hastaların nakil ünitesindeki takiplerinde 147'sinde (%77.4) febril nötropenik (FEN) atak, 136'sında (%71.5) diare, 136'sında (%72) oral mukozit gelişti. Oral mukozit olan hastaların en fazla olarak 51'inde (% 37.5) grade 1, en az olarak da 22'sinde

(%16,2) grade 4 mukozit izlendi. Hastalar nakil sonrası primer hastalık durumları açısından incelendiğinde nakil sonrası ilk 100 günde hastaların 104'ü (%54,7) tam remisyonda izlenirken, 35'inde (%18,4) hastalık relapsı, 51'inde (%26,8) kalıntı hastalık (minimal rezidüel hastalık:MRH) izlendi. Nakil 100. günden sonra ise remisyonda izlenen 103 hastanın 7'sinde MRH, 26'sında hastalık relapsı gelişirken, MRH olan 51 hastanın da 7 sinde hastalık relapsı gelişti. Hastaların beş yıllık takiplerinde ise 52 (%27,3) hastada MRH, 68 (%35,7) hastada relaps geliştiği izlenirken, 70 (%36,8) hasta remisyonda izlendi.

03/2015 -03/2020 tarihleri arasındaki takiplerde 190 hastanın 63'ü (%33.2) çeşitli nedenlerden kaybedildi. Hastaların 153 'ünde (%80.5) CVM PCR da pozitiflik saptandı.

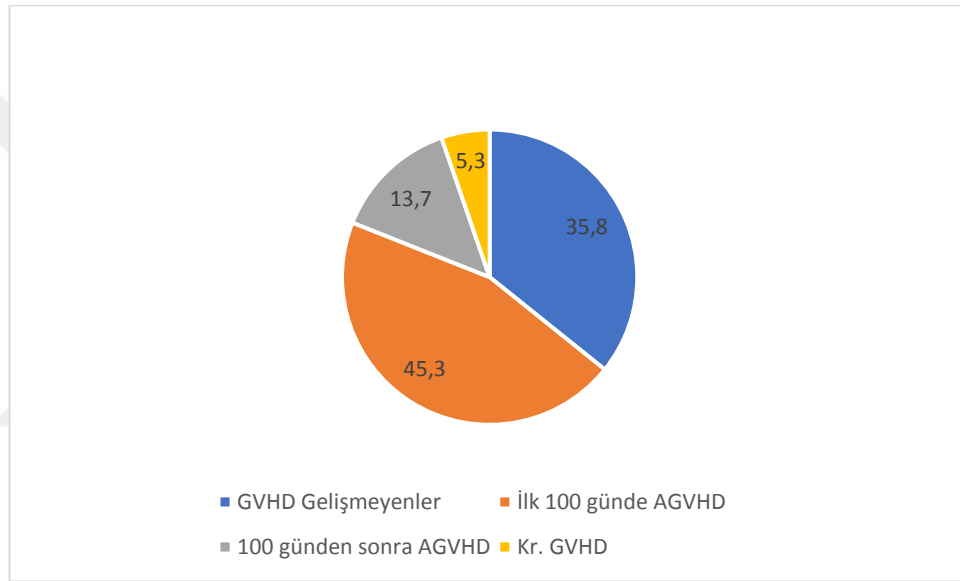
Tablo 4-1 de hastaların genel özellikleri belirtilmiştir.

Tablo 4.1. Hastaların Genel Özellikleri

	n (%)		n (%)		n (%)
Cinsiyet		Kan grup uyumsuzluğu		İlk 100 günde hastalık durumu	
Kadın	78 (%41,1)	Yok	110 (%57,8)	MRH	51 (%26,8)
Erkek	112 (%58,9)	Var	80 (%42,2)	Relaps	35 (%18,4)
Tanı		Hazırlama rejimi		Remisyon	104 (%54,7)
Akut Lösemi	135 (%71,1)	Ablatif	130 (%68,4)	Beş yıllık Takipte Hastalık Durumu	
KMPH	19 (%10)	Red-int	60 (%31,6)	MRH	52 (%27,3)
Lenfoproliferatif	24 (%12,6)			Relaps	68 (%35,7)
Diğer	12 (%6,3)	Sağ kalın durumu		Remisyon	70 (%36,8)
Akut Lösemiler		Yaşıyor	127 (%66,8)	GVHH	
AML	87 (%64,4)	Eksitus	63 (%33,2)	Yok	68 (%35,8)
ALL	36 (%26,7)	CVM		Var	122 (%64,2)
MDS	12 (%8,9)	Yok	37 (%19,5)	GVHH tipi	
Nakil mevsimi		Var	153 (%80,5)	Sadece Akut	82 (%67,2)
İlkbahar	45 (%23,7)	FEN atak		Akut ve kronik	30 (%24,6)
Yaz	55 (%28,9)	Yok	43 (%22,6)	Sadece Kronik	10 (%8,2)
Sonbahar	51 (%26,8)	Var	147 (%77,4)	AKUT GVHH	
Kış	39 (%20,5)	Diare		Yok	10 (%8,2)
Donör tipi		Yok	54 (%28,5)	Var	112 (%91,8)
AV	70 (%36,8)	Var	136 (%71,5)	Akut GVHH sayısı	
ADV	99 (%52,1)	Mukozit		1	70 (%62,5)
HAPLO	21 (%11,1)	Yok	53 (%28)	> 1	42 (%37,5)
Donör cinsiyeti		Var	136 (%72)	Kronik GVHH	
Erkek	118 (%62,1)	Mukozit maks grade		Yok	82 (%32,8)
Kadın	72 (%37,9)	Grade 1	51 (%37,5)	Var	40 (%32,8)
Cinsiyet uyumsuzluğu		Grade 2	34 (%25)		
Yok	94 (%49,5)	Grade 3	29 (%21,3)		
Var	96 (%50,5)	Grade 4	22 (%16,2)		

4.1.2. GVHH Genel Özellikler

Toplam 190 hastanın beş yıllık takiplerinde 122'sinde (%64.2) akut veya kronik herhangi bir GVHH geliştiği saptanırken, 68 (35,8) hastada GVHH hiç gelişmediği saptandı. GVHH gelişen 122 hastanın 82 'sinde (%67.2) sadece akut, 30'unda (%24.6) akut ve kronik , 10'unda (%8.2) da sadece kronik GVHH geliştiği görüldü. Akut GVHH gelişenlerin 70'inde (%62.5) tek organda, 42'sinde (%37.5) ise birden fazla organda GVHH geliştiği saptandı (grafik 4-1)



Grafik 4.1. Beş Yıllık Takipte GVHH Gelişim Yüzdeleri

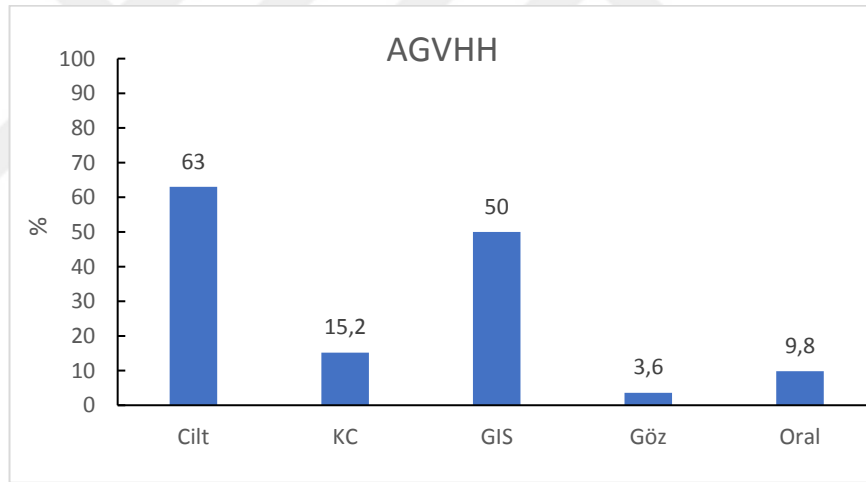
Akut GVHH ortalanca 44,5 günde (9-360) gelişti. Akut GVHH, 100 gün önce ve sonra gelişmesine göre ayrı değerlendirildiğinde, ilk 100 günde akut GVHH ortalanca 37 günde (9-100); 100 günden sonra gelişen de novo akut GVHH ler ise ortalanca 148,5 günde (103-360), gelişti. Kronik GVHH ler ise ortalanca 6. ayda (2-16) gelişti.(Tablo 4-2)

Tablo 4.2. Akut ve Kronik GVHH Gelişim Günleri

	Ortanca (Min-Maks)
Tüm akut GVHH (gün)	44,5(9-360)
İlk 100 günde AGVHH (gün)	37 (9-100)
De novo AGVHH (gün)	148.5 (103-360)
Kronik GVHH (ay)	6 (2-16)

Akut GVHH gelişen 112 hastanın 71'inde (%63.4) cilt GVHH, 56'sında (%50) GİS GVHH, 17'sinde (%15.2) karaciğer GVHH, 11'inde (%9.8) oral GVHH, 4'ünde (%3.6) göz GVHH geliştiği saptandı (Grafik 4-2)

Cilt GVHH ortalanca 44. günde (12-360), GİS GVHH ortalanca 53. günde (9-360), karaciğer GVHH ortalanca 48. günde (9-150), oral GVHH ortalanca 80. (36-240) günde, göz GVHH ortalanca 64,5. (41-81) geliştiği saptandı (Tablo 4-3)

**Grafik 4.2.** AGVHH Organ Tutulum Yüzdeleri**Tablo 4.3.** Organ GVHH Gelişme Günleri

AGVHH	N	Ortanca Gün (Min-Maks)
Cilt GVHH	71	44 (12-360)
GİS GVHH	56	53 (9-360)
KC GVHH	17	48 (9-150)
Oral GVHH	11	80 (36-240)
Göz GVHH	4	64.5 (41-81)

4.1.3. Hastaların Kültür Üreme Özellikleri

Hastaların nakil hazırlık rejim başlangıcı ile nakil sonrası 100. gün arasında alınan kültürlerde üreme durumları karşılaştırıldığında hastaların 87'sinin (%45.8) kültürlerinde üreme saptandı. üreme saptanan hastaların 43'ünde (%49.4) kan kültürde, 15'inde (%17.2) katater kültürde, 30'nda (%34.5) idrar kültürde, 6 'sında (%6.9) solunum yolu kültürlerde, 32 'sinde (%36.8) gayta kültürde üreme tespit edildi.

Kültürlerde üreyen mikroorganizmalar değerlendirildiğinde kan kültürde üreme olan 43 hastanın 8'inde (%18.6) gr pozitif aerob, 28'inde (%65.1) gr negatif enterik, 8' inde (%18.6) gr negatif nonfermentatif mikroorganizma ürediği tespit edildi. Kan kültürlerinde mantar üremesine rastlanmadı.

Katater kültürlerinde üreme saptanan 14 hastanın 4'ünde (%26.7) gr pozitif aerob, 7'sinde (%46.7) gr negatif enterik, 3'ünde (%20) gr negatif nonfermentatif mikroorganizma ürediği izlendi. Katater kültürlerinde mantar üremesi saptanmadı.

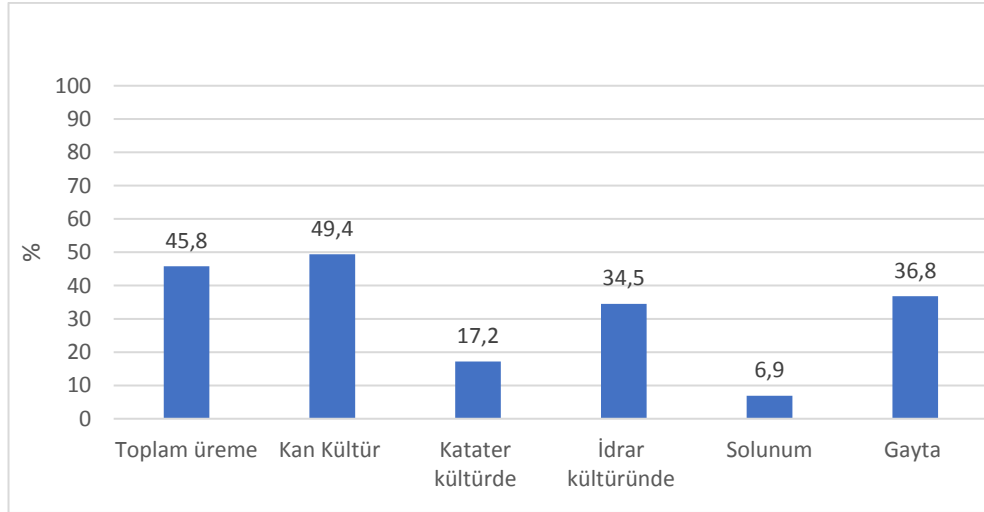
İdrarda kültürlerinde üreme saptanan 30 hastanın ise 7'inde (%23.3) gr pozitif aerob, 21'inde (%70) gr negatif enterik, 2'sinde (%6.7) gr negatif nonfermentatif mikroorganizmalar olduğu izlenirken idrar kültürlerinde mantar üremesi izlenmedi.

Solunum yolunda üreme saptanan 6 hastanın 3'ünde (%50) gr pozitif aerob, 1'inde (%16.7) gr negatif nonfermentatif ve 2'sinde (%33.3) mantar ürediği görüldü. Solunum yolunda gr negatif enterik bakteri üremesi saptanan hasta olmadı.

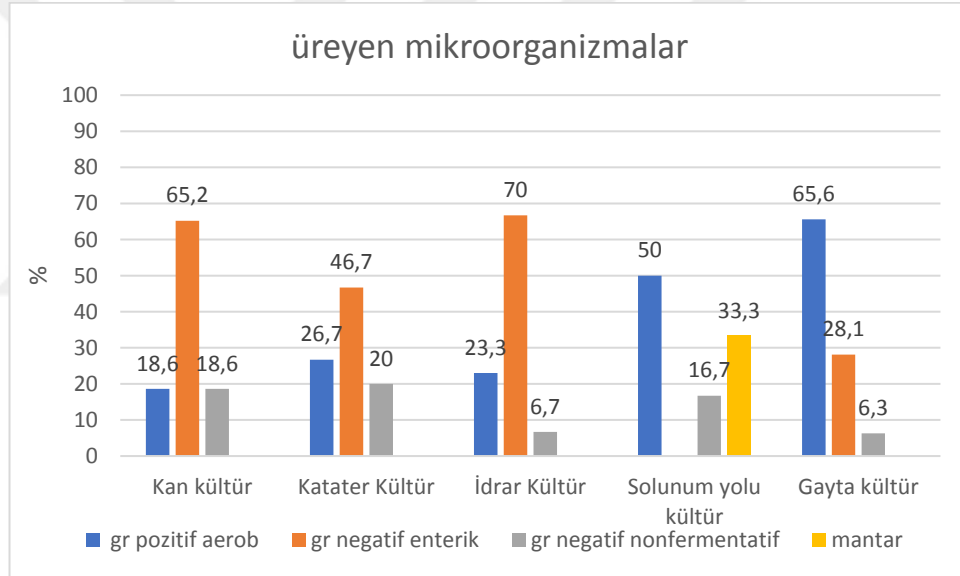
Gayta kültürlerinde üreme saptanan 32 hastanın 21'inde (%65.6) gr pozitif aerob, 9'unda (%28.1) gr negatif enterik, 2'sinde (%6.3) gr negatif nonfermentatif mikroorganizma ürediği görüldü. Gayta kültürlerinde mantar üremesine rastlanmadı.

Grafik 4-3 ve 4-4'de hastaların üreme yüzdeleri gösterilmiştir.

Kültürlerdeki üremelerin günleri değerlendirildiğinde kan kültürlerinde üreme günü ortancası 12 gün olup üremeler -4. gün ile 100. gün arasında, katater kültür üreme günü ortancası 12 gün olup üremeler 2. gün ile 89. gün arasında, idrar kültür üreme günü ortancası 37 gün ve üremeler 1. gün ile 93. gün arasında olduğu saptandı. Solunum yolundan alınan örneklerde üreme gün ortancası 45 gün olup üremelerin 6. gün ile 100. gün arasında, gayta kültürlerinde üreme günü ortancası ise 21 gün olup üremenin -2. gün ile 90. gün arasında olduğu izlendi (Tablo 4-4)



Grafik 4.3. Hastaların Kültür Üreme Özellikleri



Grafik 4.4. Kültürlerde Üreyenler

Tablo 4.4. Hastalarda Kültür Üreme Günleri

	N	Üreme günü
		Ortanca (Min-maks)
Kan kültürde üreme	43	12 (-4 – 100)
Katater kültürde üreme	15	12 (2-89)
İdrar kültürde üreme	30	37 (1-93)
Solunum yolu kültürde üreme	6	45 (6-100)
Gayta kültürde üreme	32	21 (-2 – 90)

4.1.4. GVHH-Üreme ilişkisi

AGVHH gelişen ve gelişmeyen hastaların üreme durumları karşılaştırıldığında, AGVHH gelişen ve gelişmeyen hastaların ilk 100 günlük takiplerinde kan, kateter, idrar, solunum yolu, gayta kültürlerindeki üremeleri arasında istatistiksel düzeyde anlamlı farklılığa rastlanılmadı ($p>0,05$). (Tablo 4-5)

Ayrıca mikrobiota popülasyonu yoğunluğunun en fazla olduğu yer gastrointestinal sistem olduğu düşünüldüğünde, GİS GVHH gelişen hastalar ile gelişmeyen hastaların üremeleri karşılaştırıldığında da anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). (Tablo 4-6)

Tablo 4.5. AGVHH Gelişen ve Gelişmeyen Hastaların Üremelerinin Karşılaştırılması

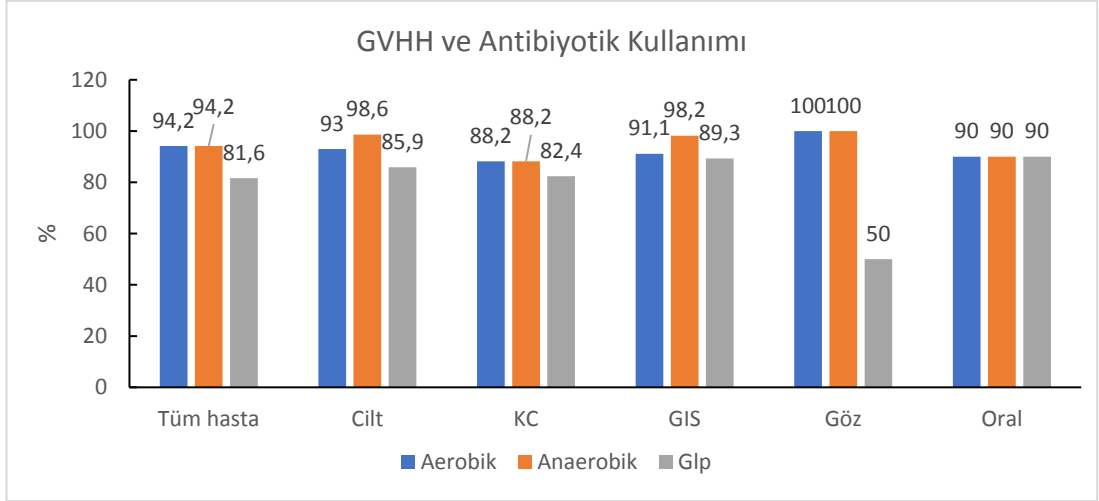
	AGVHH (n=112)	GVHH YOK(n=68)	p
	n (%)	n (%)	
Üreme			
Yok	63 (%56,2)	36 (%52.9)	0.661
Var	49 (43.8)	32 (%47.1)	
Kan Kx			
Yok	87 (%77.7)	53 (%77.9)	0.967
Var	25 (%22.3)	15 (%22.1)	
Kateter Kx			
Yok	104 (%92.9)	64 (%94.1)	1.000
Var	8 (%7.1)	4 (%5.9)	
İdrar Kx			
Yok	93 (%83)	60 (%88.2)	0.334
Var	19 (%17)	8 (%11.8)	
Sy Kx			
Yok	110 (%98.2)	64 (%94.1)	0.351
Var	2 (%1.8)	4 (%5.9)	
Gayta Kx			
Yok	63 (%56.2)	36 (%52.9)	0.661
Var	49 (%43.8)	32 (%47)	

Tablo 4.6. GİS AGVHH Gelişenlerle Gelişmeyenlerin Üremelerinin Karşılaştırılması

	GİS GVHH VAR (n=56)	GİS GVHH YOK (n=56)	p
	n (%)	n(%)	
Üreme			
Yok	29 (%51,8)	34 (%60,7)	0.341
Var	27 (%48,2)	22 (%39,3)	
Kan kx			
Yok	45 (%80,4)	42 (%75)	0.496
Var	11 (%19,6)	14 (%25)	
Kateter kx			
Yok	50 (%89,3)	54 (%96,4)	0.271
Var	6 (%10,7)	2 (%3,6)	
İdrar kx			
Yok	43 (%76,8)	50 (%89,3)	0.078
Var	13 (%23,2)	6 (%10,7)	
Sy kx			
Yok	55 (%98,2)	55 (%98,2)	1.000
Var	1 (%1,8)	1 (%1,8)	
Gayta kx			
Yok	47 (%83,9)	48 (%85,7)	0.792
Var	9 (%16,1)	8 (%14,3)	

4.1.5. GVHH-Antibiyotik İlişkisi

Tüm hastaların 100 gün boyunca kullandığı antibiyotikler topluca değerlendirildiğinde aerobik etkili antibiyotik kullanma oranı %94.2, anaerobik etkili antibiyotik kullanma oranı %94.2, glikopeptit grup (glp) antibiyotik kullanma oranı %81.6 olarak bulundu (Grafik 4-5)



Grafik 4.5. AGVHH Gelişenlerde Antibiyotik Kullanım Yüzdeleri

GVHH gelişen hastaların antibiyotik kullanım gün özellikleri tablo 4-7 de verilmiştir.

Tablo 4.7. GVHH Organ Tutulumlarının ve Tüm Hastaların Antibiyotik Kullanma Günleri

AGVHH organ tutulum ve antibiyotik kullanımları	sayı	Ortanca gün (Min-maks)
Akut GVHD	112	44.5 (9-360)
Cilt AGVHH	71	44 (12-360)
Cilt Aerobik kullanma günü	66	19.5 (2-52)
Cilt Anaerobik kullanma günü	70	21 (5-67)
Cilt glp kullanma günü	61	14 (2-36)
GIS AGVHH	56	53 (9-360)
GIS Aerobik kullanma günü	51	22 (1-82)
GIS Anaerobik kullanma günü	55	21 (1-153)
GIS glp kullanma günü	50	13.5 (1-40)
KC AGVHH	17	48 (9-150)
KC Aerobik kullanma günü	15	20 (5-36)
KC Anaerobik kullanma günü	15	25 (9-46)
KC glp kullanma günü	14	16.5 (4-33)
Oral AGVHH	11	80 (36-240)
Oral Aerobik kullanma günü	9	30 (18-53)
Oral Anaerobik kullanma günü	9	21 (10-48)
Oral glp kullanma günü	9	12 (6-39)
Göz AGVHH	4	64.5 (41-81)
Göz Aerobik kullanma günü	4	16.5 (2-23)
Göz Anaerobik kullanma günü	4	13.5 (5-50)
Göz glp kullanma günü	2	24 (8-40)
Tüm Hastalar		
Aerobik kullanma günü	179	24 (1-84)
Anaerobik kullanma günü	179	23 (1-95)
Glp kullanma günü	155	14 (1-70)

Antibiyotik kullanımının AGVHH gelişimine etkisi incelenmek istendiğinde akut GVHH gelişen hastalarla gelişmeyen hastaların antibiyotik kullanımları karşılaştırıldı. AGVHH gelişen ve gelişmeyen hastaların aerobik, anaerobik ve glikopeptit grup antibiyotik kullanım oran ve günleri (Tablo 4-8) arasında anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$).

Tablo 4.8. AGVHH Gelişen ve Gelişmeyenlerin Antibiyotik Kullanım Günü Karşılaştırılması

	AGVHH Ortanca (Min-Maks)	AGVHH gelişmeyen Ortanca (Min-maks)	P
Aerobik kullanma günü	20 (1-82)	22 (2-63)	0.686
Anaerobik kullanma günü	21 (1-67)	19 (1-52)	0.607
Glp kullanma günü	14 (1-36)	11 (1-35)	0.056

İlk 100 günde AGVHH gelişen hastalar ile GVHH gelişmeyen hastaların kullandıkları antibiyotikler karşılaştırıldığında ise iki grup arasında üç grup antibiyotik kullanım oran ve günleri (Tablo 4-9) arasında da anlamlı fark izlenmedi.

Tablo 4.9. İlk 100 Günde AGVHH Gelişen ve GVHH Gelişmeyenlerin Antibiyotik Kullanım Günlerinin Karşılaştırılması

	İlk 100 Günde AGVHH (n=86) Ortanca (Min-Maks)	GVHH gelişmeyen (n=68) Ortanca (Min-maks)	p*
Aerobik kullanma günü	20 (1-82)	22 (2-63)	0.576
Anaerobik kullanma günü	20 (1-51)	19 (1-52)	0.887
Glp kullanma günü	14 (1-34)	11 (1-35)	0.068

100 günden sonra de novo AGVHH gelişen hastalar ile GVHH gelişmeyen hastalar da antibiyotik kullanımları açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında her üç grup antibiyotik kullanım oran ve günleri arasında anlamlı fark izlenmedi (Tablo 4-10).

Tablo 4.10. De novo AGVHH Gelişen Hastalarla GVHH Gelişmeyenlerin Antibiyotik Kullanım Günlerinin Karşılaştırılması

	De novo AGVHH (n=26)	GVHH gelişmeyen (n=68)	p*
	Ortanca (Min-Maks)	Ortanca (Min-maks)	
Aerobik kullanma günü	20 (9-47)	22 (2-63)	0.875
Anaerobik kullanma günü	25 (1-67)	19 (1-52)	0.246
Glp kullanma günü	15.5 (3-36)	11 (1-35)	0.202

Antibiyotik kullanımının kronik GVHH gelişimine etkisi incelendiğinde ise kronik GVHH gelişen hastalarla GVHH gelişmeyen hastaların aerobik, anaerobik ve glikopeptit kullanma oranları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Antibiyotik kullanım günleri karşılaştırıldığında ise kronik GVHH gelişen hastalarda anaerobik kullanma günleri ($p<0.01$) ve glikopeptit kullanma günleri ($p<0.01$) GVHH gelişmeyen hastalara göre anlamlı düzeyde fazla bulunurken; aerob kullanım günleri arasında anlamlı fark bulunmadı (Tablo 4-11)

Tablo 4.11. Kronik GVHH Gelişen Hastalarla GVHH Gelişmeyenlerin Antibiyotik Kullanım Günlerinin Karşılaştırılması

	Kr. GVHH Gelişen (n=40)	GVHH Gelişmeyen (n=68)	
	Ortanca (Min-Maks)	Ortanca (Min-maks)	p
Aerobik kullanma günü	26 (1-82)	22 (2-63)	0.095
Anaerobik kullanma günü	27 (1-90)	19 (1-52)	0.005
Glp kullanma günü	19 (1-70)	11 (1-35)	0.001

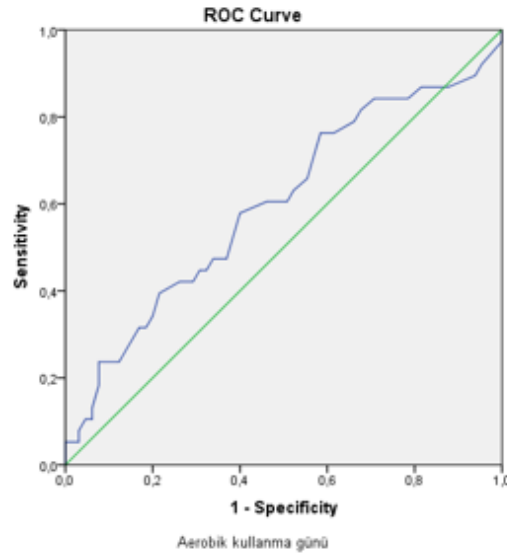
Kronik GVHH gelişmesinde antibiyotiklerin kullanma günlerinin ROC analizi ve eşik değer sonuçları incelendiğinde ise anaerobik kullanma günü ($p<0.01$), ve glikopeptit kullanma günü ($p<0.01$) kronik GVHH olan hastaları ayırmada anlamlı bulunurken aerob kullanma günü anlamlı bulunmadı.

Kr GVHH gelişiminde antibiyotiklerin kullanma günlerinin ROC analizi ve eşik değer sonuçları anaerobik kullanma günü için en iyi kesim noktası 22.5 gün,

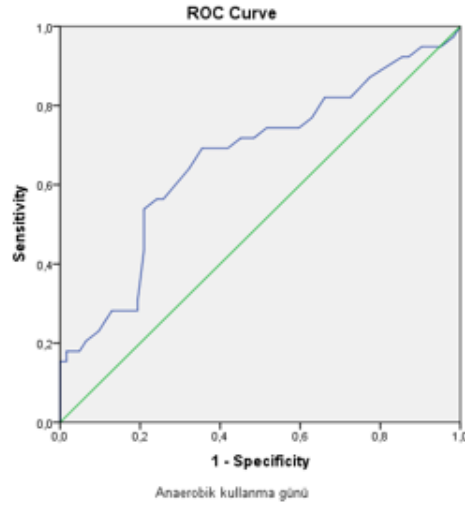
glikopeptitler için en iyi kesim noktası 14.5 gün olarak tespit edildi (Tablo 4-12, Grafik 4-6,7,8)

Tablo 4.12. Kronik GVHH Gelişmesinde Antibiyotiklerin Kullanma Günlerinin ROC Analizi ve Eşik Değer Sonuçları

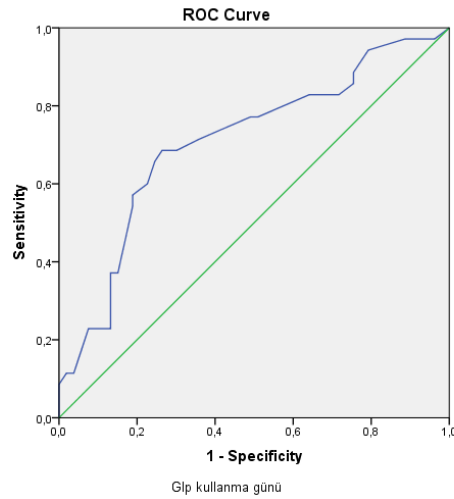
	Eşik değer	AUC	SE	95 % CI		P
				Alt Sınır	Üst sınır	
Aerobik kullanma günü		0.599	0.059	0.482	0.715	0.095
Anaerobik kullanma günü	22.5	0.666	0.057	0.554	0.779	0.005
Glp kullanma günü	14.5	0.708	0.058	0.594	0.822	0.001



Grafik 4.6. Kr. GVHH gelişiminde aerob kullanım günü ROC eğrisi



Grafik 4.7. Kr. GVHH Gelişiminde Anerob Kullanma Günü ROC Eğrisi



Grafik 4.8. Kr. GVHH gelişiminde glikopeptit kullanım günü ROC eğrisi

4.1.6. Hasta Alt Grupların Antibiyotik Kullanım ve GVHH Karşılaştırılması

4.1.6.1. Akut GVHH ile Hasta Alt Grup İlişkisi

Akut GVHH gelişimine tanı grupları, yaş (60 yaş üstü ve altı), donör tipleri, hazırlama rejimlerinin etkileri (tablo 4-13) incelendiğinde AGVHH gelişme oranları bakımından fark bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo 4.13. Tanı, Yaş, Hazırlama Rejimi, Donör Tipi ile AGVHH Gelişme Karşılaştırması

	AGVHH YOK (n=68)	AGVHH VAR (n=112)	p
Tanı grupları			
Akut Lösemi	55 (%40,7)	80 (%59,3)	0.728
KMPH	9 (%47,4)	10 (%52,6)	
Lenfoproliferatif	8 (%33,3)	16 (%66,7)	
Diğer	6 (%50)	6 (%50)	
Yaş grup			
<60	67 (%40,6)	98 (%59,4)	0.748
≥ 60	11 (%44)	14 (%56)	
Donör tipi			
AV	26 (%37,1)	44 (%62,9)	0.704
ADV	43 (%43,4)	56 (%56,6)	
HAPLO	9 (%42,9)	12 (%56,6)	
Hazırlama rejimi			
Ablatif	50 (%38,5)	80 (%61,5)	0.285
Red-int	28 (%46,7)	32 (%)	

4.1.6.2 Hasta Alt Grupların Antibiyotik Kullanımlarının Karşılaştırılması

60 yaş altı ve 60 yaş üzeri hastaların arasında (tablo 4-14), tanı grupları arasında antibiyotik kullanım oranları ve günleri (tablo 4-15) karşılaştırıldığında tanı grupları arasında aerobik, anaerobik ve glikopeptit kullanma oranları ve günleri arasında anlamlı fark izlenmedi ($p>0,05$).

Tablo 4.14. Yaş Gruplarının Antibiyotik Kullanım Günlerinin Karşılaştırılması

	YAŞ < 60 Ortanca (Min-Maks)	YAŞ ≥ 60 Ortanca (Min-maks)	p
Aerobik kullanma günü	25 (1-84)	20 (1-67)	0.671
Anaerobik kullanma günü	22 (1-95)	26 (1-65)	0.632
Glp kullanma günü	13 (1-70)	17 (3-32)	0.497

Tablo 4.15. Tanı Grupları ile Antibiyotik Kullanım Günlerinin Karşılaştırılması

	Akut Lösemi	KMPH	Lenfoproliferatif	Diğer	
	Ortanca (Min-Maks)	Ortanca (Min-Maks)	Ortanca (Min-Maks)	Ortanca (Min-Maks)	p*
Aerobik kullanma günü	24 .5 (1-84)	22.5 (4-40)	25 (2-67)	25 (2-39)	0.596
Anaerobik kullanma günü	22 (1-95)	17.5 (7-56)	25.5 (1-65)	26 (5-67)	0.490
Glp kullanma günü	13 (1-70)	15.5 (2-34)	15.5 (3-36)	17.5 (5-35)	0.801

Donör tiplerinin antibiyotik kullanımları karşılaştırıldığında (tablo 4-16); donör tipi AV olan hastaların aerobik kullanma günü ADV ve haploidentik olanlara göre anlamlı düzeyde kısa bulunurken (sırasıyla $p=0.023$, $p=0.014$), donör tipi ADV ve haploidentik olanlar arasında aerobik kullanma günü bakımından fark saptanmadı ($p=0.726$). Donör tipi AV olan hastaların anaerobik kullanma günü haploidentik olanlara göre anlamlı düzeyde KISA bulunurken ($p=0.020$), donör tipi AV ile ADV olanlar arasında ve ADV ile haploidentik arasında anaerobik kullanma günü bakımından fark saptanmadı (sırasıyla $p=0.308$, $p=0.254$). Donör tipi haploidentik olan hastaların Glp kullanma günü AV ve ADV olanlara göre anlamlı düzeyde uzun bulundu (sırasıyla $p=0.017$, $p=0.018$). Donör tipi AV ve ADV olanlar arasında glikopeptit kullanma günü bakımından fark saptanmadı ($p=1.000$).

Hazırlık rejimlerinin antibiyotik kullanımları karşılaştırıldığında ise azaltılmış yoğunluk rejim uygulananlarda aerobik ($p<0.05$); ablatif olanların ise glikopeptit ($p<0.05$) kullanma oranlarının daha fazla olduğu saptanırken hazırlama rejimi ablatif olanlarla azaltılmış yoğunluk rejim olan hastaların anaerobik kullanma oranları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Hazırlama rejimleri arasında antibiyotik kullanma günleri karşılaştırıldığında ise anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$) (tablo 4-17).

Tablo 4.16. Donör Tiplerinin Antibiyotik Kullanım Günlerinin Karşılaştırılması

	AV	ADV	HAPLO	Test İstatistiği (KW)	p*
	Ortanca (Min-Maks)	Ortanca (Min-Maks)	Ortanca (Min-Maks)		
Aerobik Kullanma Günü	20 (1-58)	25 (1-84)	30 (5-69)	10.967	0.004
Anaerobik Kullanma Günü	19 (1-90)	23 (1-95)	30 (4-76)	7.740	0.021
Glp Kullanma Günü	12 (1-70)	13 (1-57)	22 (4-52)	8.514	0.014

Tablo 4.17. Hazırlık Rejimlerinin Antibiyotik Kullanım Gün Karşılaştırılması

	ABLATİF	RED-İNT	p
	Ortanca (Min-Maks)	Ortanca (Min-maks)	
Aerobik kullanma günü	25 (1-84)	24 (1-67)	0.579
Anaerobik kullanma günü	22 (4-95)	24 (1-65)	0.836
Glp kullanma günü	13 (1-70)	14.5 (3-52)	0.679

4.1.6.3. Akut Lösemi Hasta Alt Gruplarının Akut GVHH ve Antibiyotik Kullanımlarının Karşılaştırılması

Akut lösemi tanısı olan hastalarda, hazırlama rejimi, donör tipi ile AGVHH gelişme oranları karşılaştırıldığında ise donör tipleri arasında, hazırlama rejimleri arasında AGVHH gelişme oranları arasında fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 4-18)

Tablo 4.18. Akut Lösemi Olan Hastalarda, Hazırlama Rejimi, Donör Tipi ile AGVHH Gelişme Karşılaştırılması

Akut Lösemi Hastalarında	AGVHH YOK n=55 n (%)	AGVHH VAR n=80 n (%)	p
Donör tipi			
AV	17 (%36,2)	30 (%63,8)	0.727
ADV	30 (%42,9)	40 (%57,1)	
HAPLO	8 (%44,4)	10 (%55,6)	
Hazırlama rejimi			
Ablatif	38 (%37,3)	64 (%62,7)	0.147
Red-int	17 (%51,5)	16 (%48,5)	

Akut lösemi tanılı 135 hastanın hazırlık rejimleri açısından incelendiğinde akut lösemi olan 135 hastanın 102'sinin (%75.6) hazırlama rejimi ablatif, 33'ünün (%24.4) azaltılmış yoğunluklu olduğu görüldü. Bu hasta grupları antibiyotik kullanımları karşılaştırıldığında (tablo 4-19) hazırlık rejimleri arası antibiyotik grupları kullanım oran ve günleri arası anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$).

Tablo 4.19. Akut Lösemi Hastalarının Hazırlık Rejimlerinin Antibiyotik Kullanımlarının Karşılaştırılması

AKUT LÖSEMİLER	ABLATİF	RED-İNT	P
	Ortanca (Min-Maks)	Ortanca (Min-maks)	
Aerobik Kullanma Günü	25 (1-84)	23 (1-63)	0.850
Anaerobik Kullanma Günü	22 (4-95)	24 (1-49)	0.982
Glp Kullanma Günü	13 (1-70)	15 (6-52)	0.491

Yine akut lösemi hastaları donör tipleri açısından incelendiğinde hastaların 47'sinin (%34.8) donör tipi AV, 70'inin (%51.9) ADV, 18'inin (%13.3) haploidentik idi. Akut lösemi hastalarında donör tipi AV, ADV ve haploidentik olanlarda aerobik, anaerobik ve glikopeptit kullanma oranları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

Akut lösemi hastaları antibiyotik kullanım günleri açısından incelendiğinde (tablo 4-20) ise ; donör tipi AV olan hastaların aerobik kullanma günü ADV ve haploidentik olanlara göre anlamlı düzeyde kısa bulunurken (sırasıyla $p=0.019, p=0.005$), donör tipi ADV ve haploidentik olanlar arasında aerobik kullanma günü bakımından fark saptanmadı ($p=0.553$).

Donör tipi AV hastaların anaerobik kullanma günü haploidentik olanlara göre anlamlı düzeyde kısa bulunurken ($p=0.013$), donör tipi AV ile ADV olanlar arasında ve ADV ile haploidentik olanlar arasında anaerobik kullanma günü bakımından fark saptanmadı (sırasıyla $p=0.517, p=0.130$).

Donör tipi haploidentik olan hastaların da glikopeptit kullanma günü AV ve ADV olanlara göre anlamlı düzeyde uzun bulunurken (sırasıyla $p=0.015, p=0.025$), donör tipi AV ve ADV olanlar arasında glikopeptit kullanma günü bakımından fark saptanmadı ($p=1.000$).

Tablo 4.20. Akut Lösemi Hastalarında Donör Tipi ile Antibiyotik Kullanım Günlerinin Karşılaştırılması

	AV	ADV	HAPLO	Test İstatistiği (KW)	p*
	Ortanca (Min-Maks)	Ortanca (Min-Maks)	Ortanca (Min-Maks)		
Aerobik kullanma günü	19 (1-45)	25 (1-84)	36 (5-69)	12.283	0.002
Anaerobik kullanma günü	18 (1-90)	23 (1-95)	30 (4-76)	8.214	0.016
Glp kullanma günü	12 (1-70)	13 (1-57)	23 (4-52)	8.452	0.015

4.1.6.4. Çoklu Değişken Analiz Sonuçları

Akut ve kronik GVHH gelişimine etkili olabilecek faktörler tek başına değerlendirildikten sonra kr GVHH gelişimine etkili olabileceği düşünülen bağımsız risk faktörleri (yaş, cinsiyet, nakil durumu, tanı, cinsiyet uyumsuzluğu, kan grubu uyumsuzluğu mikroorganizma üreme durumu, antibiyotik kullanma oranları ve antibiyotik kullanma günleri) çoklu değişken logistik regresyon analizine dahil edilerek geriye dönük eleme yöntemi ile sonuç Logistik Regresyon modeli elde edildi.

Kronik GVHH gelişen hastalarla hiç GVHH gelişmeyen hastaların cinsiyet, yaş grup, tanı, donör tipi, cinsiyet uyumsuzluğu, kan uyumsuzluğu ve üreme oranları arasında (tablo 4-21) fark bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo 4.21. Kronik GVHH Gelişen Hastalarla Hiç GVHH Gelişmeyen Hastaların Karşılaştırması

	Kronik GVHH Var (n=40) n (%)	GVHH gelişmeyen (n=68) n (%)	P
Cinsiyet			
Kadın	18 (%45)	24 (%35,3)	0.318
Erkek	22 (%55)	44 (%64,7)	
Yaş grup			
< 60	36 (%90)	59 (%86,8)	0.764
≥ 60	4 (%10)	9 (%13,2)	
Tanı			
Akut Lösemi	28 (%70)	49 (%72,1)	0.833
KMPH	4 (%10)	5 (%7,4)	
Lenfoproliferatif	6 (%15)	8 (%11,8)	
Diğer	2 (%5)	6 (%8,8)	
Dönör Tipi			
AV	17 (%42)	21 (%30,9)	0.373
ADV	18 (%45)	40 (%58,8)	
HAPLO	5 (%12)	7 (%10,3)	
Cinsiyet uyumsuzluğu			
Yok	24 (%60)	34 (%50)	0.314
Var	16 (%40)	34 (%50)	
Kan uyumsuzluğu			
Yok	22 (%55)	37 (%56)	0.847
Var	18 (%45)	28 (%43,1)	
Üreme			
Yok	21 (%52)	36 (%52,9)	0.965
Var	19 (%47)	32 (%47,1)	

Kronik GVHH gelişimine etkili olabilecek bağımsız değişkenlerle oluşturulan logistik model sonucunda sadece glikopeptit kullanma günü kr GVHH gelişiminde anlamlı bulunup, glikopeptit kullanım gününün 14.5 günün üzerinde olması kronik GVHH gelişimi için etkili bir faktör olarak bulundu ($p<0.001$). Glikopeptit kullanım süresinin 14.5 günden fazla olması kronik GVHH gelişme riskini 6.667 kat arttırdığı saptandı (tablo 4-22).

Tablo 4.22. KRGVHH Gelişimi İçin Multivariate Lojistik Regresyon Analizi Sonucu

Değişken	B	Std.Error	OR	95 % CI	P value
Glp Kullanma günü >14.5	1.894	0.503	6.667	2.489 17.859	0.000

4.2. Kalprotektin -GİS GVHH ilişkisi

Çalışmamızın prospektif kısmına 16/05/2019 ile 09/01/2020 tarihleri arasında AÜTF Hematoloji Bilim Dalında AHKHN yapılan 33 hasta dahil edildi. 33 hastanın 19'u (%57.5) erkek, 14'ü (42,5) kadın olup yaşları 22 ile 68 arasındaydı. Hastaların tanılarını incelendiğinde 24'ü akut lösemi (%72,7), 3'ü (%9) kronik myeloproliferatif hastalık, 6'sı (%18,3) lenfoproliferatif hastalık olduğu görüldü. Hastaların nakil 0, 1,7,14,21, 35, 49 ve 63. günlerinde alınan toplam 8 gayta örneğinden fekal kalprotektin (fk) düzeyi çalışıldı. Bu 33 hastanın 20'sinde (%60.6) GİS GVHH gelişmediği, 13'ünde (%39.4) GİS GVHH geliştiği saptandı.

Gis GVHH gelişmeyen hastalarla gelişen hastaların 0.gün, 1.gün, 7.gün, 14.gün, 21.gün, 35.gün, 49.gün ve 63.gün fk değerleri arasında fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 4-23)

Tablo 4.23. GİS GVHH Gelişmeyen Hastalarla Gelişenlerin FK Değerlerinin Karşılaştırılması

	GİS GVHH YOK (n=20)	GİS GVHH VAR (n=13)	p
	Ortanca (Min-Maks)	Ortanca (Min-maks)	
Fk 0.GÜN	87.96(5.49-1316.9)	94.88(13.69-314.12)	0.790
Fk 1.GÜN	62.45(5.62-470.25)	90.86(4.21-5556)	0.329
Fk 7.GÜN	74.26(5.94-386.64)	95.68(16.15-1266.6)	0.531
Fk 14.GÜN	93.36(21.76-1791.6)	77.96 (34.75-435.48)	0.724
Fk 21.GÜN	78.59(10.52-269.5)	112.56(54.76-5391)	0.108
Fk 35.GÜN	73.24 (8.42-218.9)	179.6 (30.54-5560)	0.165
Fk 49.GÜN	143.82(21.03-420.7)	234.52(32.64-3935)	0.340
Fk 63.GÜN	127.59(20.58-4452)	80.04(29.72-5560)	0.604

GİS GVHH gelişen hastalarda bazal fk değeri ortancası 99.7 (13.7-314.1), GİS GVHH geliştiği gündeki fk değeri ortancası 112.5 (54.7-1053) olarak bulundu. Bu hastaların bazal fk değeri ile GİS GVHH geliştiği gündeki fk değeri arasında fark bulunmadı ($p>0.05$).

Hastaların tahmini beklenen engraftman sürelerine kadarki akut faz yanıtları olarak crp değerleri karşılaştırıldığında ise GİS GVHH gelişen hastalarla gelişmeyen hastaların 0.gün, 1.gün, 7.gün,14.gün,21.gün crp değerleri arasında fark bulunmadı ($p>0.05$).

GİS GVHH gelişmeyen hastalarla gelişen hastaların ilk 21. Gündeki en yüksek crp değerleri ve en yüksek crp günleri arasında fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 4-24).

GİS GVHH gelişen hastaların 0.gün, 1.gün, 7.gün,14.gün,21.gün crp değerleri karşılaştırıldığında ise crp değerleri arasında fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 4-25).

Tablo 4.24. GİS GVHH Gelişmeyen Hastalarla Gelişen Hastaların İlk 21. Gündeki En Yüksek CRP Değerleri

	GİS GVHH YOK (N=20)	GİS GVHH VAR (N=13)	p*
	Ortanca (Min-Maks)	Ortanca (Min-maks)	
İlk 21.Gün En Yüksek Crp	119.5 (22-333)	123 (12-264)	0.624
Yüksek Crp Günü	10.5 (2-28)	8 (0-21)	0.207

Tablo 4.25. GİS GVHH Gelişen Hastaların 0.gün, 1.gün, 7.gün,14.gün,21.gün CRP Değerleri Karşılaştırılması

	Test İstatistiği	p*
	Ortanca (Min-maks)	
CRP 0.gün	24 (3.6-262)	0.251
CRP 1.gün	25 (4.5-138)	
CRP 7.gün	53 (2.6-225)	
CRP 14.gün	25 (8.6-101)	
CRP 21.gün	22 (1.6-70)	

* Friedman Test

GİS GVHH gelişen hastalarda ölçüm yapılan günlerde crp ile fk arasındaki korelasyon incelendiğinde ise crp 0.gün ile fk 0.gün, crp 1.gün ile fk 1.gün, crp 7.gün ile fk 7.gün, crp 14.gün ile fk 14.gün, crp 21.gün ile fk 21.gün, ve ilk 21.gün en yüksek crp değeri ile fk 21.gün değeri arasında ilişki bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 4-26)

Tablo 4.26. Gis GVHH Gelişen Hastalarda Ölçüm Yapılan Günlerde CRP ile Fk Arasındaki Korelasyon Değerlendirmesi

	r*	p
CRP 0.gün		Fk 0.gün
	0.082	0.811
CRP 1.gün		Fk 1.gün
	-0.069	0.823
CRP 7.gün		Fk 7.gün
	0.544	0.055
CRP 14.gün		Fk 14.gün
	0.324	0.280
CRP 21.gün		Fk 21.gün
	0.025	0.949
İlk 21.gün en yüksek CRP		Fk 21.gün
	0.233	0.546

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Antibiyotik ve GVHH ilişkisi

Çalışmamızda 03/2015 ile 01/2020 tarihleri arasında AÜTF Hematoloji Bilim Dalı'nda AHKHN yapılan 190 hastanın dosya verileri incelenerek antibiyotik kullanım ile GVHH gelişimi arasındaki ilişki incelenmesi amaçlandı. Hastaların nakil öncesi hazırlık rejim başlangıcından nakil sonrası 100. güne kadarki kullandıkları antibiyotikleri değerlendirildi.

Akut GVHH geliştiren hastalarımızın GVHH gelişenlerde aerobik etkili antibiyotik kullanma günler ortanca 20 (minimum 1, maksimum 8) gün, anaerobik kullanma günü ortanca 21 (minimum 1, maksimum 67) gün, glikopeptit kullanım günü 14 (minimum 1, maksimum 36) gün ve GVHH gelişmeyenlerde aerobik etkili antibiyotik kullanma günler ortanca 22 (minimum 2, maksimum 63) gün, anaerobik kullanma günü ortanca 19 (minimum 1, maksimum 52) gün, glikopeptit kullanım günü 11 (minimum 1, maksimum 36) gün olması literatür geneline göre benzer antibiyotik kullanım süresi olduğu düşünülebilir.

Antibiyotikler aerobik etkililer, anaerobik etkililer ve glikopeptitler olarak üç grupta sınıflandırıldı. Kullanılan antibiyotiklerin toplam kullanıldıkları günler hesaplandı. Peş peşe veya aralıklı kullanımlar ayrıca belirtilmedi. Aynı gruptan farklı antibiyotikler eş zamanlı olarak kullanıldıklarında o gruptaki herhangi bir antibiyotik kullanılmış olarak kaydedildi. Literatüre bakıldığında Shono ve arkadaşları (50) siprofloksasin ve metronidazol profilaksisi ile rifaksimin profilaksisini ve FEN atakta kullanılan piperasilin tazobaktam ve imipenem ile aztreonam ve sefepimi; Farowski ve arkadaşları (84) penisilinler, florokinolonlar, klindamisin, glikopeptitler ve tetrasiklinleri; Simms Waldrip ve arkadaşları (74) piperasilin tazobaktam, sefepim, vankomisin, klindamisin, metronidazol, meropenemi; Hidaka ve arkadaşları (78) karbapenem, florokinolon, penisilinler, sefepim ve glikopeptiti; Nishi ve arkadaşları (87) ise dördüncü kuşak sefalosporinler, glikopeptitler, piperasilin tazobaktam, karbapenemler, aminoglikozidler ve kinolonlar ile GVHH ilişkisini araştırmışlardır. Literatürdeki çalışmalarda genel olarak antibiyotikler ile anaerobik bakterilerin

etkilenmesinin GVHH insidansını artırdığı sonucuna varıldığından bizim çalışmamızda antibiyotikler baskın etkinliği aerobik, anaerobik etkili ve bu gruba ek olarak glikopeptitlerin incelenmesi farklılık olarak değerlendirildi.

Antibiyotik GVHH ilişkisinde akut ve kronik GVHH ayrıca değerlendirilirken, akut GVHH ler de nakil sonrası 100 gün içinde ve nakilden 100 gün sonra gelişenler olmak üzere tekrar incelendi. Literatürdeki antibiyotik GVHH ilişkisini araştıran çalışmalara bakıldığında antibiyotik kullanımı olarak genelde hazırlık rejim ile nakil sonrası engraftman süreci arası veya nakil sonrası 30. Gün içindeki antibiyotiklerin, Simms-Waldrip ve arkadaşlarının (74) yaptığı çalışmada ise ilk 100 gündeki GVHH gelişim süresine kadarki antibiyotik kullanımlarının değerlendirildiği görüldü. Bizim çalışmamızda ise nakil sonrası 100 gün içindeki GVHH gelişen hastalar için GVHH gelişim zamanına kadarki antibiyotikler ile 100 günden sonra GVHH gelişenler için ise nakil sonrası 100. güne kadarki kullanılan antibiyotiklerin değerlendirilmesi farklılık olarak görüldü.

Antibiyotiklerin etkisi değerlendirilirken gayta mikrobiotasını inceleyemediğimizden antibiyotiklerin mikrobiyata etkisinin değerlendirilememesi, mikrobiatanın incelendiği çalışmalardan eksik yanımız olarak düşünülebilir.

Akut GVHH gelişen hastalarla gelişmeyen hastaların tanı, yaş (60 yaş altı ve üstü), donör tipi, hazırlık rejimleri , üreme durumları karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştı. Mikrobiota popülasyonunun insan vücudunda en yoğun alt GIS'de olduğu düşünüldüğünde GIS GVHH gelişen hastalarla gelişmeyen hastaların gayta ve diğer üremeleri arasında fark izlenmedi. Anaerobların kültürde üretilmelerinin zorlukları gayta kültürde üremenin saptanamamasına sebep olabileceği düşünüldü. Gayta kültürlerinde en fazla üreyen Enterokoklar olmasına rağmen bu üremeler ile GVHH arasında ilişki saptanmadı.

Akut GVHH gelişen ve gelişmeyen hastaların kullandıkları antibiyotik günleri karşılaştırıldığında, iki grup hastanın aerob, anaerob ve glikopeptit kullanım günleri arasında fark izlenmedi. Akut GVHH ler de ilk 100 günde gelişen ve 100 günden sonra gelişen de novo GVHH ler olarak ayrı ayrı değerlendirildiğinde de akut GVHH gelişen ve gelişmeyen hastalar arasında anlamlı fark izlenmedi.

1970 lerde başlayan ve barsak dekontaminasyonunun GVHH yi azalttığı görüşü son dekatlarda yapılan çalışmaların çelişkili sonuçlar vermesi nedeni ile mikrobiyolojideki gelişen teknoloji yardımıyla gayta örneklerinin incelenmesi sayesinde komensal anaerobiklerde azalma ve patojen türlerin baskınlığının GVHH insidansında artmaya neden olduğu hakkında bilgi birikimini artırmaktadır. Bizim çalışmamızda akut GVHH ile en başta anaerobik olmak üzere aerobik ve glikopeptit kullanımı ile ilişki izlenmemesi literatür bilgisi ile paralel sonuçlanmamıştır.

Weber ve arkadaşlarının (70) yaptığı çalışmada metronidazolle birlikte siprofloksasin profilaksisi ile rifaksimin profilaksisi karşılaştırıldığında metronidazol alan grupta faydalı anaeroblarda azalma, rifaksimin grubuna göre daha fazla olmasına rağmen rifaksimin grubunda GVHH gelişim açısından fark izlenmezken transplant ilişkili mortalite daha az izlenmiştir. Nakil öncesi bir hafta içinde antibiyotik alanlar (piperasilin tazobaktam, vankomisin, sefepim, imipenem), nakil sonrası antibiyotik alanlar ile nakil sonrası profilaksi dışında antibiyotik almayanlar karşılaştırıldığında anaerobik clostridialeslere karşı etkili antibiyotiklerin GVHH gelişimini ve GVHH ilişkili mortaliteyi, transplant ilişkili mortaliteyi artırdığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda nakil önce ve sonrası antibiyotik kullanımı gibi zamansal faktörler ve mikrobiota değişikliği değerlendirilmemiştir

Farowski ve arkadaşlarının (84) penisilinler, karbapenemler, florokinolonlar, klindamisin, tetrasiklinler ve glikopeptitleri karşılaştırdığı ve ayrıca penisilin sonrası karbapenem kullanımının da araştırıldığı çalışmasında penisilin ve karbapenem kullanımının GİS GVHH ile ilişkili bulunurken, penisilin sonrası karbapenem kullanımının da risk faktörü olarak saptanmıştır. Penisilin ve karbapenem kullananlarda glikopeptit kullanımı da GİS GVHH riskini artırdığı belirtilmiş. Bu çalışmaya bakıldığında ise bizim çalışmamızda ardarda kullanım incelenmemiştir.

Antibiyotik kullanım planı açısından literatürde, çalışmamıza en yakın olan Simms Waldrip ve arkadaşlarının (74) yaptığı çalışmada, antibiyotik kümülatif sürelerinin GVHH gelişenlerde GVHH gününe kadar, GVHH gelişmeyenlerde ortalanca GVHH gelişme gününe kadar hesaplanmış, total antibiyotik ve anaerob etkili antibiyotik dozları GVHH olanlarda daha fazla izlenmiştir. Karşılaştırılan antibiyotikler

olan piperasilin tazobaktam, sefepim, vankomisin, klindamisin, metronidazol, meropenem içinden klindamisin de tek başına GVHH olanlarda daha fazla kullanılmış. Bizim çalışmamızda ise GVHH gelişmeyenlerin 100 günlük antibiyotikleri değerlendirilmiştir.

Shono ve arkadaşlarının (50) on iki antibiyotiğin ikili olarak değerlendirildiği çalışmada; piperasilin tazobaktam ve imipenem alanlarda grade 2-4 GVHH ve GIS GVHH daha fazla izlenirken, aztreonam ve sefepim kullananlarda GVHH nedeni mortalite azalmış olarak izlenmiş. Bu sonuçlar piperasilin tazobaktam ve imipenemin zorunlu anareoblara yüksek etkinlikte olup aztreonam ve sefepimin daha düşük etkinlikte olmasına bağlanmıştır.

Peled ve arkadaşlarının (53) yaptığı çalışmada ise piperasilin tazobaktam ve meropenem ile GIS mikrobiota çeşitlilikte azalma belirgin izlenirken, yüksek mikrobiota çeşitliliği olanlarda daha az GVHH ilişkili mortalite izlenmiştir..

Hidaka ve arkadaşları (78) karbapenem kinolon, penisilin, sefepim, glikopeptit antibiyotiklerin 0-21 gün arası kullanımlarını karşılaştırdıklarında karbapenemin yedi günden fazla kullanılmasının GIS GVHH için risk olduğu belirlenmiştir.

Nishi ve arkadaşları (87) dördüncü kuşak sefalosporin, glikopeptit, piperasilin tazobaktam, karbapenem, aminoglikozidler, florokinolonları karşılaştırdığı çalışmada dördüncü kuşak sefalosporinlerle grade 2-4 GVHH gelişme riskinin arttığı izlenmiş, daha önceki çalışmalardan farklı olarak piperasilin tazobaktamın GVHH gelişimine etkisiz, dördüncü kuşak sefalosporin etkili bulunmasını tekrarlayan antibiyotik kullanımı ile ırklar arası barsak mikrobiota farkı ile açıklamışlardır.

Kısaca özetlenen bu çalışmalara dikkat edildiğinde bizim çalışmamızdan farklı olarak antibiyotik çeşitlerinin, nakil öncesi ve sonrası ile ardarda antibiyotik kullanımları gibi daha dar spektrumda antibiyotik kullanımlarının araştırıldığı görülmektedir. Barsak mikrobiota bozulmasının GVHH ile ilişkisini belirten artmakta olan çalışmalara katkı sağlamak amacı ile bizim çalışmamızda, barsaktaki anaerob komensallerin etkilenmesinin GVHH ve ilişkili durumları artırdığı bilgisinin grubuna bakılmaksızın tüm anaerob etkili antibiyotikler için genellenip genellenemeyeceğinin bir anlamda cevabı verilmiş olabilir. Antibiyotik kullanımının nakilden önce ve sonra

kullanımına bakılmadan, peşpeşe kullanımın değil de aralıklı da olsa toplam kullanım günleri açısından değerlendirilmesi bir diğer genel değerlendirmeye cevap olarak düşünülebilir.

Nishi ve arkadaşlarının (87) da makalelerinde diğer çalışmalar ile çelişkiyi açıklamaya çalıştıkları gibi ırksal mikrobiota çeşit, direnç genleri çalışmamızdaki farklılıklara sebep olabilir. Hu ve arkadaşlarının ırklar arasında barsak mikrobiota üyelerindeki direnç gen, sayı ve çeşidinin farklılık gösterebileceğini göstermesi buna kanıt olabilir.

Dethlefsen ve arkadaşları (88), aynı antibiyotik ile barsak mikrobiota hasarının kalıcı şiftlere neden olduğunu belirttiği gibi antibiyotik kullanımının fazla olduğu ülkemizde hastaların gerek mevcut hematolojik hastalıklarında antibiyotik gereksinimlerinin fazla olması gerekse hastane dışında kullanılan antibiyotikler bu duruma neden olmuş olabilir.

Beelen ve arkadaşlarının (60,62) siprofloksasin ve metronidazol ile sadece siprofloksasin profilaksisini karşılaştırdığı ve metronidazol olan grupta akut GVHH'nin daha izlendiğini bildirdiği çalışmasında olduğu gibi metronidazolün GVHH'yi azaltıcı etkisi nedeni ile anaerob etkili antibiyotik grubun içinde olması çalışmamızdaki anaerobik antibiyotiklerin GVHH gelişimine etkisiz olmasına yol açmış olabilir.

Akut GVHH ile antibiyotik kullanımının ilişkisiz sonuçlanmasına rağmen çalışmamızın kronik GVHH antibiyotik ilişkisinin araştırılmasında kr GVHH gelişiminde anaerobların 22,5 gün, glikopeptitler 14,5 gün kullanımının etkili bulundu. Çoklu değişken analiz sonrası ile sadece glikopeptit kullanımının 14,5 günden fazla olması kr GVHH riskini 6.6 kat artırdığı saptandı. Literatürde glikopeptit ve kr GVHH gelişimi arasında ilişkiyi belirten yayın bulunmamaktadır. Yayınlarda glikopeptitlerden en sık kullanılan vankomisinine yerine bizde teikoplaninin daha sık kullanılması ve bu antibiyotik ile belirtilmiş yayının olmaması bu ilişkiye neden olmuş olabilir. Glikopeptitlerin akut değil de kronik GVHH riskini artırmaları ise glikopeptitlerin bilinmeyen uzun dönem etkisi bu sonuca yol açmış olabilir.

GVHH antibiyotik etkisinin değerlendirilmesinde aerobik ve anaerobik etkili antibiyotikler gibi geniş antibiyotik gruplarının değil de glikopeptitler gibi daha

spesifik bir grubun etkili olduğunu saptamamız ise literatürdeki gibi daha dar etki spektrumların bu ilişkide değerlendirilmesinin daha kolay olacağını destekler niteliktedir. Glikopeptitlerin etki spektrumu daha belirgin olarak gr pozitif anaerob bakteriler üzerine olması nedeni ile bu etkinin mikrobiyata analizi ile değerlendirilmesi daha doğru olacaktır.

Mikrobiata popülasyonunun GİS'te daha yoğun olması nedeni ile GVHH ilişkisinde barsak mikrobiatasındaki değişikliklerin incelenmesi daha ağırlık kazanmıştır. Mikrobiata popülasyonunun yüksek olduğu diğer organ olan cildin de bu incelemeye dahil edilmesi daha anlamlı olacaktır. Glikopeptitlerin kullanım endikasyonları da düşünüldüğünde cilt mikrobiatası üzerindeki değişikliklerin de GVHH ye etkisi olabilir. Çalışmamızda antibiyotiklerin organ spesifik GVHH ye etkisinin değil de genel GVHH etkisinin araştırılması, GİS dışında mikrobiata popülasyonunun fazla olduğu cilt, ağız içi gibi bölgelerde gelişebilecek GVHH lerin bu etkiye neden olabilmesi ihtimal dahilinde görülmektedir.

Geniş antibiyotik grup sınıflaması ve toplam antibiyotik kullanımları gibi mevcut yayınlardan farklı olan çalışmamızda mikrobiatanın bakılamamış olması da kr GVHH de glikopeptitlerin risk faktörü olarak sonuçlanmasını açıklamada eksikliğe neden olmuştur. Taur (66) ve arkadaşlarının engraftman sürecinde mikrobiata çeşitliliğinin azalmasının GVHH ile ilişkili olabileceğini bildirmesinden sonra yayınlarda tahmini engraftman sürecine kadar kullanılan antibiyotiklerin araştırılması ağırlık kazanmıştır. Çalışmamızda bunun ayrı olarak değerlendirilmemesi hem avantaj hem de dezavantaj niteliğinde olabilir. Engraftman süreci gibi hem disbiyozisin ağırlıklı izlendiği hem de GVHH etkisinin izlenmeye başlandığı dönemin ayrı olarak değerlendirilmemesi dezavantajımız olurken; görece daha az etkili zaman dilimi olan engraftman sonrasındaki antibiyotik kullanımlarının da GVHH ye etkisinin araştırmaya dahil edilmesi de avantajımız olabileceğini düşünmekteyiz. Nakil açısından sorunsuz bir şekilde kemik iliği transplantasyon polikliniğinde takip edilen hastalara çeşitli nedenlerle poliklinikte reçete edilen antibiyotiklerin de çalışmaya dahil edilmesi bunu destekleyebilir.

Çalışmamızda GVHH profilaksisi, radyoterapi kullanımı, HLA uyum derecesi, kök hücre kaynağı gibi GVHH gelişiminde etkili olabilecek faktörlerin kullanılmaması diğer eksik yönlerimizden birisidir.

Tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde kr GVHH gelişiminde glikopeptit kullanımının risk faktörü olarak sonuçlanması literatürde olmayan yeni bir bilgi olup mikrobiota analizi ile bu etkinin değerlendirilmesi neden sonuç ilişkisinin açıklanması açısından daha tatminkar olacaktır.

5.2. GİS GVHH - Kalprotektin

Hastalardan GVHH gelişme durumuna bakılmadan önceden belirlenen 0, 1, 7, 14, 21, 35, 49, 63. günlerde gayta örnekleri alındığından GİS GVHH gelişen hastaların semptomlarına en yakın tarihteki fekal kalprotektin (fk) değerleri GVHH geliştiğindeki değerler olarak kabul edildi. Literatür incelendiğinde genellikle nakil öncesi ve nakil sonrasında GVHH düşündürecek semptomları olan hastalardan semptom sırasında tekrar örnek alınmasına göre literatürden farklı bir çalışma dizaynımız olduğu görüldü. Çalışmamızdaki 0. gün değeri bazal kalprotektin değeri olarak planlandı. Kontrol grubumuz da gayta örnekleri toplanan hastalar içindeki GVHH gelişmeyen veya GİS dışı GVHH gelişen hastalar olarak planlandı. Bir hastadan aralıklı olarak toplamda sekiz örnek alınması planlanmasına rağmen örnek verme açısından hasta uyumu düşük olarak izlendi. Bunun sebebi olarak da hastane yatışındaki febril nötropeni, kullanılan ilaçlar, komorbid durumlar, hastaların yaşadığı anksiyete, servis takibinde ve taburculuk sonrası KİT poliklinik kontrollerindeki gayta örnek vermeye özel zorluklar olarak düşünüldü. Gayta örnek verme zorluğu da düşünülerek planlanan günlerden +/- 2 gün fark ile alınan örnekler de çalışmaya dahil edilip planlanan günde verilmiş olarak kaydedildi.

Örnek alınan 33 hastanın nakil sonrası 13'ünde (%39.4) GİS GVHH geliştiği, 20'sinde (%60.6) GİS GVHH gelişmediği saptandı. GVHH gelişen 13 hastanın 12 si ilk 63 gün içinde GİS GVHH gelişirken bir tanesinde ise 93. günde gelişti. GİS GVHH gelişen hastalar ile gelişmeyen hastaların bazal fk (0. Gün) değerleri karşılaştırıldığında GİS GVHH gelişmeyenlerin ortalama fk değeri 87.96 mg/kg (5.49-

1316.9) iken, GİS GVHH gelişenlerin ortalanca fk değeri 94.88 mg/kg (13.69-314.12) olarak izlendi. İki grup arasında istatistiksel anlamda bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Semptomu olmayan normal hastalarda fk değeri $<50\text{mg/kg}$ altı normal kabul edildiğinden iki grubun da değerlerinin normalden yüksek olduğu izlendi. Literatür incelendiğinde Broglie ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bazal kalprotektin değerinin GİS GVHH gelişende 89 mg/kg, gelişmeyende ise 46 mg/kg olarak ölçülüp, GİS GVHH gelişen ve gelişmeyen hastaların bazal fk değerleri arasında fark izlenmediği belirtilerek, GİS GVHH düşündürecek semptomu olmayan hastaların bazal fk değerlerinin ileride gelişebilecek GİS GVHH'yi predikte etme gücü olmadığı kararına varılmıştı. Schmidlin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise takipte GİS GVHH gelişen ve gelişmeyen hastaların hastaneye kabulde bakılan fk değerleri arasında anlamlı fark izlenmediği belirtilmişti. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde bir sonuca varıldı.

GİS GVHH gelişen hastaların bazal fk değerleri ile GİS GVHH geliştiği günlerdeki fk değerleri karşılaştırıldığında GİS GVHH gelişenlerin bazal ortalanca fk değeri 94.88 mg/kg (13.69-314.12), GVHH geliştiği gündeki ortalanca fk değeri 112.5mg/kg (54.7-1053) olarak izlendi. Bu iki grup arasında da istatistiksel bir fark saptanmadı. GİS GVHH gelişen hastalarla gelişmeyen hastaların 0.gün, 1.gün, 7.gün, 14.gün, 21.gün, 35.gün, 46.gün ve 63.gün fk değerleri karşılaştırıldığında iki grup arasında fk değerleri açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Metafuni ve arkadaşlarının yaptığı GİS GVHH gelişenlerde mean 198 mg/kg (58,4-500), GVHH gelişmeyenlerde mean 32,2 mg/kg (15,6-89), Bastos Oreiro ve arkadaşlarının yaptığı GİS GVHH gelişenlerde ortalama fk düzeyleri 504 mg/kg ve GİS GVHH gelişmeyen hastalarda ortalama 107,4 mg/kg olarak GİS GVHH tanımlamada anlamlı sonuçlanan çalışmalarla karşılaştırıldığında çalışmamızda, fk değerinin GİS GVHH tanımlamada tüm hastalar birlikte değerlendirildiğinde anlamlı bir sonuca varılamadı. Hasta sayımızın az olması bu sonucun çıkmasında bir etken olabileceği sonucuna varıldı.

Çalışmamızda fk değerleri açısından sadece GİS GVHH gelişenlerle gelişmeyenler karşılaştırılmıştı. Hasta sayımızın az olması, kontrol grubumuzun da hastalarımızın içinde olması nedeni ile GİS GVHH gelişenlerle diğer organlarda GVHH gelişen hastalar karşılaştırılamadı. 33 hastadan 13 'ünde (%39) GİS GVHH, 8 'inde

(%24) cilt GVHH gelişmesi ve bu hastaların 4'ünde (%12) hem GIS hem cilt GVHH gelişmesi GIS GVHH gelişenlerle GIS dışı GVHH gelişen hastaları karşılaştırmada anlamlı sayıda olmadığı düşünüldü. Literatürde GIS GVHH ile GIS dışı GVHH gelişen hastaların fk düzeyleri karşılaştırıldığında ise O'Meara ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (sırasıyla 318 -38mg/kg), Adam arkadaşlarının yaptığı çalışmada (sırasıyla 595-51,7) ve Chiusolo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (sırasıyla 500-95 mg/kg) GIS GVHH gelişenlerde, GIS dışı GVHH gelişenlere göre anlamlı düzeyde daha yüksek fk değerleri bildirilmiştir. Broglie ve arkadaşlarının yaptığı, GIS GVHH gelişenlerle gelişmeyenlerin fk değerlerinin karşılaştırıldığı çalışmada ise GIS GHVD gelişenlerde, gelişmeyenlere göre anlamlı derecede yüksek fk değerine rastlanmadığı belirtilmişti (sırasıyla 56-121 mg/kg). Steroid refrakter GIS GVHH lerin fk değerleri ile ayırt edilip, predikte edilebileceği şekilde sonuçlanan Metafuni ve arkadaşları ile Lorenz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda grade 3-4 GIS GVHH lerde, grade 1-2 GIS GVHH lere göre anlamlı derecede yüksek fk değerleri izlenmişti. Adam ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise grade 1 ve 2 GIS GVHH arasında fk düzeyleri açısından fark izlenmezken, grade 2 de grade 3 ve 4'e göre anlamlı derecede düşük fk düzeyi izlendiği bildirilmişti. Bizim çalışmamızda GIS GVHH gelişen hastalar grade olarak ayrıca değerlendirilmemişti; fakat steroid refrakter GIS GVHH izlenen bir hastamızda ikinci hafta içerisinde gelişen cilt GVHH hemen peşinden GIS GVHH gelişmişti. 0.ve 1. gün 77 mg/kg ve 37mg/kg olan fk değerleri 14. gün 148mg/kg a yükselmişti. 21. günde 53mg/kg'a geriledikten sonra diğer fk değerleri 3000-5500mg/kg arası seviyelere yükselmişti. Cilt GVHH için steroid alan hastanın cilt GVHH peşinden GIS GVHH gelişmesine rağmen fk değerindeki düşüşün steroid etkisi ile olduğu sonucuna varıldı. Diare ve melenası gerileyen hastanın nakilden sonraki ikinci ay içinde GIS GVHH atağının tekrarlaması ve steroide yeterli yanıt alınamaması, steroid dirençli GIS GVHH lerde steroid cevaplı GIS GVHH'lere göre anlamlı daha yüksek fk değeri izlenmesi ile sonuçlanan çalışmalara tek hasta örneğinde de olsa benzer olarak sonuçlandı.

GIS GVHH gelişen 13 hastadan bir tanesinde steroid refrakter GIS GVHH izlenmesi ve bu hastanın fk değerleri literatür bilgileri ile uyumlu olmasına rağmen,

hastalar tek tek değerlendirildiğinde GİS GVHH gelişmemesine rağmen 100-1500mg/kg arasında fk değerine sahip hastalar izlenirken, GİS GVHH gelişmesine rağmen 100mg/kg altında fk değerine sahip hastalar olduğu da izlendi. Steroid yanıtı GİS GVHH'lerde daha düşük fk düzeyleri izlenebilmesi ve bu hastaların semptom ve bulguları incelendiğinde steroide yanıt alındığı gözlenmesi hasta bazında da olsa literatür ile uyumlu olarak sonuçlandığı şeklinde düşünülebilir. Eşik fk değeri 96 mg/kg alındığında sensitivite %92 spesifite %90 olarak sonuçlandığı Adam ve arkadaşlarının; eşik değeri 100 mg/kg alındığında GVHH tanımlanmasında prediktif değeri %100 olarak sonuçlanan ve eşik değeri 450 mg/kg alınca pozitif prediktif değeri %100 izlenen Bastos Oreiro ve arkadaşlarının çalışmaları ile paralellik izlenmedi.

Hastaların fk örnek zamanları ile GİS GVHH zamanlarının uymaması, GİS GVHH tanısı olanlarda tedavi sonrası fk değerlerinin düşmüş olabileceği şeklinde yorumlanabilirken; GİS GVHH semptom ve bulgusu olmasına rağmen yüksek fk değerleri izlenmesi fk değerinin GİS GVHH dışındaki inflamasyona neden olabilecek tanımlanamamış enfektif tablolar, kullanılan ilaçlar ve bilinmeyen sebeplerin de fk düzeyini etkileyebileceği şeklinde yorumlanabilir.

GİS GVHH gelişen hastaların hastaların 0, 1, 7, 14, 21, 35, 49 ve 63. gün fk değerleri arasında karşılaştırmaları hasta uyumunun genelde düşük olması nedeni ile yeterli örnek verilemediği için yapılamadı. Otuz üç hastadan sadece üç hastamız tüm örnekleri verebilmişken, bir hastamız ise sadece iki örnek verebildi.

Çalışmamızda literatür ile benzer şekilde fk değeri ile GİS GVHH arası uyum izlenmemesi üzerine fk değerinin inflamasyonu göstermede CRP sonuçları ile birlikte değerlendirilmesi planlandı. Kalprotektinin fekal düzeyinin inflamasyonda yüksek izlenmesi, barsaklara inflamasyona neden olan nötrofil göçü nedeni ile olduğu literatürde belirtilmişti. Hatta bu sebeple barsaklardaki inflamasyonu göstermede serum kalprotektin düzeyine göre daha sensitif olduğu, İBH hastalarında kalprotektin fekal düzeyin serum düzeyinden 6 kat daha yüksek şekilde sonuçlandığı belirtilmişti.

Hastaların nakil sonrası 21. gün civarında engraftmanları beklendiğinden ilk 21 gün içindeki en yüksek CRP değeri GİS GVHH gelişmeyenlerde ortalama 119.5 mg/l (22-333), gelişenlerde 123mg/l (12-264) olarak, en yüksek olan CRP günleri ise GİS GVHH

gelişenlerde ortalıca 8. günde (0-21), gelişmeyenlerde ise 10.5. günde (2-28) geliştiği izlendi. İstatistiksel olarak da iki grup arasında fark izlenmedi. Nakil öncesi ve nakil sırasında kullanılan ilaçların gastrointestinal sisteme etkisi, engraftman gelişmemiş hastaların enfeksiyona neden olabilecek mikroorganizmalara daha duyarlı olmaları GİS GVHH gelişen ve gelişmeyen hastaların CRP değerleri arasındaki bu benzerliğe neden olabileceği düşünüldü. GİS GVHH gelişen hastaların 0.gün, 1.gün, 7.gün, 14.gün, 21.gün CRP değerleri karşılaştırıldığında CRP değerleri arasında fark bulunmadı ($p>0.05$). İlk 21 gündeki CRP değerleri ile fk değerleri arası korelasyon olup olmadığına bakıldığında ise bu iki değer arasında korelasyon izlenmedi. Fk değerinin inflamasyon dışı nedenlerle de değişebileceğinin bu sonuca yol açabileceği yorumlandı.

Çalışmamızın dizaynı, hasta sayımızın az olması, hasta uyumunun da az olmasının bu sonuçlara neden olabileceğini, daha çok sayıda ve GİS GVHH günlerinde örnek alınmasının GİS GVHH yi yakalama konusunda daha faydalı olabileceğini düşünmekle birlikte, tüm bunlara rağmen fk düzeyinin GİS GVHH grade'ine bakmadan GİS GVHH tanısını predikte etmediği sonucuna varılabilir.

6. ÖZET

Allojenik kök hücre nakli yapılan hastalarda akut ve kronik graft versus host hastalığı gelişiminde gayta kalprotektin düzeyinin rolü ve antibiyotik kullanımı ile ilişkisi

Giriş ve Amaç: Graft versus host hastalığı (GVHH), allojenik hematopoetik kök hücre naklin (AHKHN) önemli komplikasyonlarından biridir. Son yıllarda antibiyotik kullanımı gibi sebeplerle oluşan barsak mikrobiota hasarının GVHH' ye neden olduğu yönünde bilgiler artmaktadır. Bu çalışma ile AHKHN yapılan hastalarda akut ve kronik GVHH gelişimine antibiyotiklerin etkisinin incelenmesi amaçlandı. Çalışmanın diğer bölümünde ise inflamatuvar barsak hastalıklarında takipte kullanılan ve barsaktaki inflamasyonu gösterdiği belirtilen fekal kalprotektin seviyesi ile akut gastrointestinal GVHH arasındaki ilişkiyi incelemek amaçlandı.

Metod: Çalışmanın retrospektif kısmında 03/2015 ile 01/2020 tarihleri arasında AHKHN yapılan 190 hasta dahil edildi. Hastaların 03/2015 ile 03/2020 arasındaki takipleri retrospektif olarak incelendi. Hastaların tanı Hastaların demografik özellikleri, tanıları, donör özellikleri, nakil tarihleri, sağ kalım durumları, GVHH gelişme durumları, nakil sonrası hastalık durumları, nakil sonrası ilk 100 gün içindeki kültür üremeleri ve kullandığı antibiyotikler kaydedildi. Kullanılan antibiyotikler aerobik, anaerobik etkililer ve glikopeptitler olarak gruplandırıldı. Antibiyotik kullanımı ile GVHH ilişkisi araştırıldı. Çalışmanın prospektif kısma 05/2019 ile 01/2020 tarihleri arasında AHKHN yapılan 33 hasta dahil edildi. Hastalardan nakil 0, 1, 7, 14, 21, 35, 49, 63. günlerde gayta örneği toplanıp fekal kalprotektin seviyeleri ölçüldü.

Bulgular: Çalışmanın retrospektif kısmında 190 hastanın beş yıllık takiplerinde 122 (%64,2) sinde akut veya kr herhangi bir GVHH gelişirken 68 'inde (%35,8) GVHH gelişmedi. Akut GVHH gelişen hastalarla gelişmeyen hastaların antibiyotik kullanımları arasında fark izlenmedi. Kronik GVHH gelişen ve gelişmeyen hastalar incelendiğinde ise kr GVHH gelişenlerin daha uzun anaerobik etkili antibiyotik ve glikopeptit kullandıkları, 22.5 gün anaerobik etkili antibiyotik ve 14.5 gün glikopeptit kullanımının kr GVHH'ye sebep olabileceği saptandı. Çoklu değişken analiz sonrasında ise sadece 14.5 gün glikopeptit kullanımının kr GVHH gelişme riskini 6.6 kat artırdığı

bulundu. Çalışmanın prospektif kısmında ise 33 hastanın 20'sinde (%60.6) GİS GVHH gelişmediği, 13'ünde (%39.4) GİS GVHH geliştiği saptandı. GİS GVHH gelişen hastalarla gelişmeyen hastaların kalprotektin seviyeleri karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark izlenmedi.

Sonuç: Çalışmamızda, glikopeptit 14,5 gün kullanımının kr GVHH gelişme riskini 6.6 kat artırdığı saptanmıştır. Akut GVHH gelişmesinde ise antibiyotiklerin etkisi saptanmamıştır. Ayrıca GİS GVHH tanınmasında ve GİS GVHH öngörmede fekal kalprotektin seviyeleri etkili bulunmamıştır.

Anahtar kelimeler: Allojenik kök hücre nakli, graft versus host hastalığı, antibiyotik, fekal kalprotektin

7. SUMMARY

The role of the gaita calprotectin level and the relationship with the antibiotic use in acute and chronic graft versus host disease (GVHD) in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation

Introduction and purpose: Graft versus host disease is one of the most important complications of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. In recent years, there is growing information about microbiota damage, such reasons like antibiotic use, causes GVHD. The aim of this study was to evaluation of the effect of antibiotic use on acute or chronic graft versus host disease in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. The aim of other part of this study was to evaluate the relationship with GVHD and fecal calprotectin level which was believed to show the inflammation in the gut and used in inflammatory bowel disease follow up.

Methods: 190 patient who underwent HSCT between 03/2015 and 01/2020, included in our study. Their follow up between 03/2015 and 03/2020 was evaluated. Patients' demographic feature, diagnosis, donor feature, transplant date, survivals, GVHD state, post transplant disease state, reproductions in culture in 100 days after HSCT and antibiotic use were enrolled. Antibiotics were classified in there groups; anaerobic, aerobic spektrum and glycopeptides. Antibiotic use and GVHD was evaluated. 33 patients were included who underwent HSCT in 05/2019 and 01/2020, in the prospective part of the study. Fecal samples was obtained on 0, 1, 7, 14, 21, 35, 49, 63. days of HSCT in order to measure fecal calprotectin level.

Results: In the retrospective part of our study, in 122 patients (%64,2) developed GVHD and 68 patients (%35,8) didn't . There was no difference in the antibiotic use between the GVHD and non GVHD groups. chronic GVHD group used anaerobic antibiotic and glycopeptide longer time than non GVHD group. It was found that anaerobic antibiotic use longer than 22,5 days and glycopeptides longer than 14,5 days can cause chronic GVHD, than we used multivariate regression analysis and found that glycopeptide use longer than 14.5 days is 6,6 fold risk for chronic GVHD. In the prospective part of our study in 33 patients, 13 (%39,4)

developed gastrointestinal GVHH and 20 (60,6) didn't. There was no difference in fecal calprotectin levels between GiS GVHH and non GVHH groups.

Conclusions: We found that glycopeptide use longer than 14.5 days is 6,6 fold risk for chronic GVHH and antibiotic use has no impact on the acute GVHH development. Fecal calprotectin levels has no effect and predictive value on the diagnosis of GiS GVHH.

Key Words: Allogeneic hematopoietic stem cell transplant, Graft versus host disease, antibiotic, fecal calprotectin



8. KAYNAKLAR

1. Billingham RE: The biology of graft-versus-host reactions. Harvey Lect 62:21–78, 1966.
2. Spierings E: Minor histocompatibility antigens: Past, present, and future. Tissue Antigens 84:374–360, 2014.
3. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, et al: Graft-versus-host disease. Lancet 373:1550–1561, 2009.
4. Spierings E, Kim YH, Hendriks M, et al: Multicenter analyses demonstrate significant clinical effects of minor histocompatibility antigens on GVHD and GvL after HLA-matched related and unrelated hematopoietic stem cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant 19:1244–1253, 2013.
5. Behar E, Chao NJ, Hiraki DD, et al: Polymorphism of adhesion molecule CD31 and its role in acute graft-versus-host disease. N Engl J Med 334:286–291, 1996.
6. Sahaf B, Yang Y, Arai S, et al: H-Y antigen-binding B cells develop in male recipients of female hematopoietic cells and associate with chronic graft vs. host disease. Proc Natl Acad Sci U S A 110:3005–3010, 2013.
7. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, et al. 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. Biol Blood Marrow Transplant 2005; 11:945.
8. Vigorito AC, Campregher PV, Storer BE, et al. Evaluation of NIH consensus criteria for classification of late acute and chronic GVHD. Blood 2009; 114:702.
9. Sullivan KM, Deeg HJ, Sanders J, et al. Hyperacute graft-v-host disease in patients not given immunosuppression after allogeneic marrow transplantation. Blood 1986; 67:1172.
10. Saliba RM, de Lima M, Giral S, et al. Hyperacute GVHD: risk factors, outcomes, and clinical implications. Blood 2007; 109:2751.

11. Jenq RR, Ubeda C, Taur Y, et al. Regulation of intestinal inflammation by microbiota following allogeneic bone marrow transplantation. *J Exp Med* 2012; 209:903.
12. Mathewson ND, Jenq R, Mathew AV, et al. Gut microbiome-derived metabolites modulate intestinal epithelial cell damage and mitigate graft-versus-host disease. *Nat Immunol* 2016; 17:505.
13. Jagasia M, Arora M, Flowers ME, et al: Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation. *Blood* 119:296–307, 2012.
14. Sale GE, Lerner KG, Barker EA, et al: The skin biopsy in the diagnosis of acute graft-versus-host disease in man. *Am J Pathol* 89:621–636, 1977.
15. Emin KANSU Stem Hücre Naklinden Sonra Görülen Graft-versus-Host Hastalığı Türk Hematoloji Derneği Kan ve Kemik İliği Transplantasyonu Kursu
16. Cruz-Correa M, Poonawala A, Abraham SC, et al. Endoscopic findings predict the histologic diagnosis in gastrointestinal graft-versus-host disease. *Endoscopy* 2002; 34:808.
17. Kreisel W, Dahlberg M, Bertz H, et al. Endoscopic diagnosis of acute intestinal GVHD following allogeneic hematopoietic SCT: a retrospective analysis in 175 patients. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47:430.
18. Shimoni A, Rimon U, Hertz M, et al: CT in the clinical and prognostic evaluation of acute graft-vs-host disease of the gastrointestinal tract. *Br J Radiol* 85:e416–e423, 2012
19. Ross WA, Ghosh S, Dekovich AA, et al: Endoscopic biopsy diagnosis of acute gastrointestinal graft-versus-host disease: Rectosigmoid biopsies are more sensitive than upper gastrointestinal biopsies. *Am J Gastroenterol* 103:982–989, 2008.
20. Liu A, Meyer E, Johnston L, et al: Prevalence of graft versus host disease and cytomegalovirus infection in patients post-haematopoietic cell transplantation presenting with gastrointestinal symptoms. *Aliment Pharmacol Ther* 38:955–966, 2013.

21. Kreisel W, Dahlberg M, Bertz H, et al: Endoscopic diagnosis of acute intestinal GVHH following allogeneic hematopoietic SCT: A retrospective analysis in 175 patients. *Bone Marrow Transplant* 47:430–438, 2012.
22. Woodruff JM, Hansen JA, Good RA, et al. The pathology of the graft-versus-host reaction (GVHR) in adults receiving bone marrow transplants. *Transplant Proc* 1976; 8:675.
23. Shulman HM, Sharma P, Amos D, et al: A coded histologic study of hepatic graft- versus host disease after human bone marrow transplantation. *Hepatology* 8:463–470, 1988.
24. Varelias A, Gartlan KH, Kreijveld E, et al. Lung parenchyma-derived IL-6 promotes IL-17A-dependent acute lung injury after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2015; 125:2435.
25. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation* 1974; 18:295.
26. Rowlings PA, Przepiorka D, Klein JP, et al. IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease: retrospective comparison with Glucksberg grade. *Br J Haematol* 1997; 97:855.
27. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHH Grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15:825.
28. Cahn JY, Klein JP, Lee SJ, et al. Prospective evaluation of 2 acute graft-versus-host (GVHH) grading systems: a joint Société Française de Greffe de Moëlle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC), Dana Farber Cancer Institute (DFCI), and International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) prospective study. *Blood* 2005; 106:1495.
29. Bacigalupo A et al: Management of acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol* 137:87–98, 2007.
30. Mielcarek M, Storer BE, Boeckh M, et al: Initial therapy of acute graft-versus-host disease with low-dose prednisone does not compromise patient outcomes. *Blood* 113:2888–2894, 2009.

31. Castilla-Llorente C, Martin PJ, McDonald GB, et al: Prognostic factors and outcomes of severe gastrointestinal GVHD after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 49:966–971, 2014.
32. Couriel DR, Saliba R, de Lima M, et al: A phase III study of infliximab and corticosteroids for the initial treatment of acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 15:1555–1562, 2009.
33. Choi J, Cooper ML, Alahmari B, et al: Pharmacologic blockade of JAK1/JAK2 reduces GVHD and preserves the graft-versus-leukemia effect. *PLoS One* 9:e109799, 2014.
34. Baird K, Steinberg SM, Grkovic L, et al: National Institutes of Health chronic graft-versus-host disease staging in severely affected patients: Organ and global scoring correlate with established indicators of disease severity and prognosis. *Biol Blood Marrow Transplant* 19:632–639, 2013.
35. Lee SJ, Klein JP, Barrett AJ, et al: Severity of chronic graft-versus-host disease: Association with treatment-related mortality and relapse. *Blood* 100:406–414, 2002.
36. Storb R, Gyurkocza B, Storer BE, et al: Graft-versus-host disease and graft-versus-tumor effects after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol* 31:1530–1538, 2013.
37. Bhushan V, Collins RH Jr. Chronic graft-vs-host disease. *JAMA* 2003; 290:2599.
38. Cooke KR, Luznik L, Sarantopoulos S, et al. The Biology of Chronic Graft-versus-Host Disease: A Task Force Report from the National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23:211.
39. Holler E, Rogler G, Herfarth H, et al. Both donor and recipient NOD2/CARD15 mutations associate with transplant-related mortality and GVHD following allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2004; 104:889.
40. Hill GR, Teshima T, Gerbitz A, et al. Differential roles of IL-1 and TNF-alpha on graft-versus-host disease and graft versus leukemia. *J Clin Invest* 1999; 104:459.

41. Sakoda Y, Hashimoto D, Asakura S, et al. Donor-derived thymic-dependent T cells cause chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2007; 109:1756.
42. Zhang P, Lee JS, Gartlan KH, et al. Eomesodermin promotes the development of type 1 regulatory T (TR1) cells. *Sci Immunol* 2017; 2.
43. Anasetti C, Logan BR, Lee SJ, et al: Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. *N Engl J Med* 367:1487–1496, 2012
44. Finke J, Bethge WA, Schmoor C, et al: Standard graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin in haematopoietic cell transplantation from matched unrelated donors: A randomised, open-label, multicentre phase 3 trial. *Lancet Oncol* 10:855–864, 2009.
45. Stewart BL, Storer B, Storek J, et al: Duration of immunosuppressive treatment for chronic graft-versus-host disease. *Blood* 104:3501–3506, 2004
46. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010;464:59–65.
47. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006;444:1022–3.
48. Wang et al. *J Transl Med* (2015) 13:275 DOI 10.1186/s12967-015-0640-8
49. Andermann et al. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018 July ; 24(7): 1322–1340.
50. Yusuke Shono 1,2 and Marcel R. M. van den Brink1,3,4 Gut microbiota injury in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation
51. K. Yoshioka et al. / *Pharmacological Research* 122 (2017) 90–95
52. Yusuke Shono1 and Marcel R. M. van den Brink1- Empiric antibiotic use in allogeneic hematopoietic cell transplantation: should we avoid anaerobe coverage? *Blood advances* ,8 november 2017 x volume 1, number 25
53. Peled JU, Devlin SM, Staffas A, et al. Intestinal Microbiota and Relapse After Hematopoietic-Cell Transplantation. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2017; 35(15):1650–1659. DOI: 10.1200/JCO.2016.70.3348
54. van Bekkum D, Vos O. Treatment of secondary disease in radiation chimaeras. *Int J Radiat Biol*. 1961; 3:173–181.

55. van der Waaij D, Berghuis-de Vries JM, Lekkerkerk Lekkerkerk-v. Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice. *J Hyg (Lond)*. 1971;69(3):405-411.
56. Jones JM, Wilson R, Bealmear PM. Mortality and gross pathology of secondary disease in germfree mouse radiation chimeras. *Radiat Res*.1971;45(3):577-588.
57. van Bekkum DW, Roodenburg J, Heidt PJ, van der Waaij D. Mitigation of secondary disease of allogeneic mouse radiation chimeras by modification of the intestinal microflora. *J Natl Cancer Inst*. 1974; 52(2):401-404.
58. Kimura S, Akahoshi Y, Nakano H, et al. Antibiotic prophylaxis in hematopoietic stem cell transplantation. A meta-analysis of randomized controlled trials. *J Infect*. 2014;69(1):13-25.
59. Buckner CD, Clift RA, Sanders JE, et al. Protective environment for marrow transplant recipients: a prospective study. *Ann Intern Med*. 1978;89(6):893-901
60. Beelen DW, Elmaagacli A, Müller KD, Hirche H, Schaefer UW. Influence of intestinal bacterial decontamination using metronidazole and ciprofloxacin or ciprofloxacin alone on the development of acute graft-versus-host disease after marrow transplantation in patients with hematologic malignancies: final results and long-term follow-up of an open-label prospective randomized trial. *Blood*. 1999;93(10): 3267-3275.
61. Vossen JM, Heidt PJ, van den Berg H, Gerritsen EJ, Hermans J, Dooren LJ. Prevention of infection and graft-versus-host disease by suppression of intestinal microflora in children treated with allogeneic
62. Beelen DW, Haralambie E, Brandt H, Linzenmeier G, Muller KD, Quabeck K, et al. Evidence that sustained growth suppression of intestinal anaerobic bacteria reduces the risk of acute graft-versus-host disease after sibling marrow transplantation. *Blood*. 1992; 80:2668–2676.

63. Truitt RL, Pollard M. Allogeneic bone marrow chimerism in germ-free mice. IV. Therapy of "Hodgkin's-like" reticulum cell sarcoma in SJL mice. Transplantation. 1976; 21(1):12–16.
64. Weber D, Oefner PJ, Hiergeist A, et al. Low urinary indoxyl sulfate levels early after transplantation reflect a disrupted microbiome and are associated with poor outcome. Blood. 2015; 126(14):1723–1728.
65. Routy B, Letendre C, Enot D, et al. The influence of gutdecontamination prophylactic antibiotics on acute graft-versus-host disease and survival following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Oncoimmunology. 2016;6(1):e1258506.
66. Taur, Y. et al. The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Blood 124, 1174–1182 (2014)
67. Taur, Y. et al. Intestinal domination and the risk of bacteremia in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Clin. Infect. Dis. 55, 905–914 (2012).
68. Heimesaat MM, Nogai A, Bereswill S, Plickert R, Fischer A, Loddenkemper C, Steinhoff U, Tchaptchet S, Thiel E, Freudenberg MA, et al. MyD88/ TLR9 mediated immunopathology and gut microbiota dynamics in a novel murine model of intestinal graft-versus-host disease. Gut. 2010; 59:1079–87.
69. Shono Y, Docampo MD, Peled JU, et al. Increased GVHH-related mortality with broad-spectrum antibiotic use after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in human patients and mice. Sci Transl Med. 2016;8(339):339ra71.
70. Weber D, Jenq RR, Peled JU, et al. Microbiota disruption induced by early use of broad-spectrum antibiotics is an independent risk factor of outcome after allogeneic stem cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant. 2017;23(5):845-852.
71. Holler E, Butzhammer P, Schmid K, et al. Metagenomic analysis of the stool microbiome in patients receiving allogeneic stem cell transplantation: loss of

- diversity is associated with use of systemic antibiotics and more pronounced in gastrointestinal graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20:640-645
72. Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature*. 2013;500:232-236.
 73. Atarashi K, Tanoue T, Shima T, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science*. 2011;331:337-341.
 74. T.R. Simms-Waldrip et al. / *Biol Blood Marrow Transplant* 23 (2017) 820–829
 75. Bayston K, Baumgartner JD, Clark P, Cohen J. Anti-endotoxin antibody for prevention of acute GVHD. *Bone Marrow Transplant*. 1991;8:426–7.
 76. Cohen J, Moore RH, Al HS, Jones L, Apperley JF, Aber VR. Antibody titres to a rough-mutant strain of *Escherichia coli* in patients undergoing allogeneic bone-marrow transplantation. Evidence of a protective effect against graft-versus-host disease. *Lancet*. 1987;1:8–11.
 77. Cooke KR, Gerbitz A, Crawford JM, Teshima T, Hill GR, Tesolin A, Rossignol DP, Ferrara JL. LPS antagonism reduces graft-versus-host disease and preserves graft-versus-leukemia activity after experimental bone marrow transplantation. *J Clin Invest*. 2001;107:1581
 78. Hidaka et al. The association between the incidence of intestinal graft-vs-host disease and antibiotic use after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation *Clinical Transplantation*. 2018;32:e13361.
 79. Niwa T. Uremic toxicity of indoxyl sulfate. *Nagoya J Med Sci*. 2010; 72(1–2):1–11.
 80. Das R, Chen X, Komorowski R, Hessner MJ, Drobyski WR. Interleukin-23 secretion by donor antigen-presenting cells is critical for organ-specific pathology in graft-versus-host disease. *Blood*. 2009; 113:2352–2362. [PubMed: 19059877]

81. Das R, Komorowski R, Hessner MJ, Subramanian H, Huettner CS, Cua D, Drobycki WR. Blockade of interleukin-23 signaling results in targeted protection of the colon and allows for separation of graft-versus host disease
82. van Passel MW, Kant R, Zoetendal EG, Plugge CM, Derrien M, Malfatti SA, Chain PS, Woyke T, Palva A, de Vos WM, Smidt H. The genome of *Akkermansia muciniphila*, a dedicated intestinal mucin degrader, and its use in exploring intestinal metagenomes. *PloS one*. 2011; 6:e16876.
83. DuPont HL. Review article: the antimicrobial effects of rifaximin on the gut microbiota. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016; 43(Suppl 1):3–10.]
84. Farowski et al, Impact of choice, timing, sequence and combination of broadspectrum antibiotics on the outcome of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation *Bone Marrow Transplantation* (2018) 52 – 57
85. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, Liang S, Zhang W, Guan Y, Shen D, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012;490:55–60.
86. Sargent J. Autoimmunity: T1DM and the gut microbiome. *Nat Rev. Endocrinol*. 2015;11:193.
87. K. Nishi et al. Impact of the Use and Type of Antibiotics on Acute Graft-versus-Host Disease *Biol Blood Marrow Transplant* 24(2018)2178-2183
88. Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011; 108 : 4554–4561.
89. Hu Y, Yang X, Qin J, et al. Metagenome-wide analysis of antibiotic resistance genes in a large cohort of human gut microbiota. *Nat Commun*. 2013;4:2151
90. Bilinski et al. Impact of Gut Colonization by Antibiotic-Resistant Bacteria on the Outcomes of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Retrospective, Single-Center Study *Biol Blood Marrow Transplant* 22 (2016) 1087e1093
91. Kaiko, G. E. et al. The colonic crypt protects stem cells from microbiota-derived metabolites. *Cell* 165, 1708–1720 (2016).

92. A. Gerbitz, M. Schultz, A. Wilke, H.J. Linde, J. Scholmerich, R. Andreesen, E.Holler, Probiotic effects on experimental graft-versus-host disease: let themeat yogurt, *Blood* 103 (11) (2004) 4365–4367.
93. E.J. Ladas, M. Bhatia, L. Chen, E. Sandler, A. Petrovic, D.M. Berman, F. Hamblin, M. Gates, R. Hawks, L. Sung, M. Nieder, The safety and feasibility of probiotics in children and adolescents undergoing hematopoietic cell transplantation, *Bone Marrow Transplant* 51 (2) (2016) 262–266.
94. W. Spindelboeck, E. Schulz, B. Uhl, K. Kashofer, A. Aigelsreiter, W. Zinke-Cerwenka, A. Mulabecirovic, P.K. Kump, B. Halwachs, G. Gorkiewicz, H. Sill, H. Greinix, C. Hogenauer, P. Neumeister, Repeated fecal microbiota transplantations attenuate diarrhea and lead to sustained changes in the fecal microbiota in acute, refractory gastrointestinal graft-versus-host-disease, *Haematologica* 102 (5) (2017) e210–e213.
95. S. Di Bella, T. Gouliouris, N. Petrosillo, Fecal microbiota transplantation (FMT) for *Clostridium difficile* infection: focus on immunocompromised patients, *J. Infect. Chemother.* 21 (4) (2015) 230–237
96. P. Ehlermann, A.O. Dosch, H.A. Katus, Donor fecal transfer for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea in heart transplantation, *J. Heart Lung Transplant.* 33 (5) (2014) 551–553.
97. Pathirana WPNGW et al. Faecal Calprotectin *Clin Biochem Rev* 39 (3) 2018
98. Brun JG, Ulvestad E, Fagerhol MK, Jonsson R. Effects of human calprotectin (L1) on in vitro immunoglobulin synthesis. *Scand J Immunol* 1994;40:675-80.
99. Simard JC, Girard D, Tessier PA. Induction of neutrophil degranulation by S100A9 via a MAPK-dependent mechanism. *J Leukoc Biol* 2010;87:905-14
100. Ye L, Cheng W, Chen BQ, Lan X, Wang SD, Wu XC, et al. Levels of Faecal Calprotectin and Magnetic Resonance Enterocolonography Correlate with Severity of Small Bowel Crohn's Disease: A Retrospective Cohort Study. *Sci Rep* 2017;7:1970.
101. D'Angelo, Felley C, Frossard JL Calprotectin in Daily Practice: Where Do We Stand in 2017? *Digestion*, 17 May 2017, 95(4):293-301

102. Sipponen T, Kärkkäinen P, Savilahti E, Kolho KL, Nuutinen H, Turunen U, Färkkilä M Correlation of faecal calprotectin and lactoferrin with an endoscopic score for Crohn's disease and histological findings. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;28:1221–1229.
103. D'Haens G, Ferrante M, Vermeire S, Baert F, Noman M, Moortgat L, Geens P, Iwens D, Aerden I, Van Assche G, Van Olmen G, Rutgeerts P: Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18:2218–2224.
104. Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, Safroneeva E, Romero Y, Armstrong D, Schmidt C, Trummler M, Pittet V, Vavricka SR: Fecal calprotectin more accurately reflects endoscopic activity of ulcerative colitis than the Lichtiger Index, C-reactive protein, platelets, hemoglobin, and blood leukocytes. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19:332–341
105. Aggarwal V, Day AS, Connor S, Leach ST, Brown G, Singh R, et al. Role of capsule endoscopy and fecal biomarkers in small-bowel Crohn's disease to assess remission and predict relapse. *Gastrointest Endosc* 2017;86:1070-8.
106. Bjarnason I. The Use of Fecal Calprotectin in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2017;13:53-6.
107. Malik et al. Fecal Calprotectin as a Diagnostic and Prognostic Biomarker for Gastrointestinal Graft Versus Host Disease: A Systematic Review of Literature *Cureus* 11(2): e4143. DOI 10.7759/cureus.4143
108. Metafuni E, Giammarco S, De Ritis DG, et al.: Fecal but not serum calprotectin is a potential marker of GVHD after stem cell transplantation. *Ann Hematol.* 2017, 96:929-933.
109. Bastos Oreiro M, Castilla-Llorente C, de la Guia AL, et al.: Fecal calprotectin in allogeneic stem cell transplantation for the diagnosis of acute intestinal graft versus host disease. *Bone Marrow Transplant.* 2012, 47:1241-1242.
110. Broglie L, Rademaker A, Galvin J, et al.: Fecal calprotectin and serum albumin as markers of gastrointestinal graft versus host disease. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2018, 11:169-111.-kp7.1- O'Meara A, Kapel N, Xhaard A, et al.: Fecal

- calprotectin and alpha1-antitrypsin dynamics in gastrointestinal GVHH. Bone Marrow Transplant. 2015, 50:1105-1109
112. Adam B, Koldehoff M, Ditschkowski M, et al.: Endoscopic and histological findings are predicted by fecal calprotectin in acute intestinal graft-versus-host-disease. Dig Dis Sci. 2016, 1:2019-2026
 113. Chiusolo P, Metafuni E, Giammarco S, et al.: Role of fecal calprotectin as biomarker of gastrointestinal GVHH after allogeneic stem cell transplantation. Blood. 2012, 120:4443-4444
 114. Lorenz F, Marklund S, Werner M, Palmqvist R, Wahlin BE, Wahlin A: Fecal calprotectin as a biomarker of intestinal graft versus host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Sci Rep. 2015, 5:7920
 115. Rodriguez-Otero P, Porcher R, Peffault de Latour R, et al.: Fecal calprotectin and alpha-1 antitrypsin predict severity and response to corticosteroids in gastrointestinal graft-versus host disease. Blood. 2012, 119:5909-5917
 116. N. Schmidlin et al. Baseline calprotectin fails to predict incidence of acute gastrointestinal graft vs. host disease: a prospective study Bone Marrow Transplantation (2019) 54:343–347