

ÇOCUKLARDA KÖK HÜCRE NAKLİ

Sema ANAK*, Ebru Tuğrul SARİBEYOĞLU *

GİRİŞ VE TARİHÇE

Kemik iliği (K.İ.) nakli son yıllarda birçok malign ve malign olmayan hastalıkta başarı ile uygulanabilen bir tedavi seçeneği olmuştur. Günümüzde K.İ. dışındaki kaynaklardan da kök hücre elde edilebildiği için kemik iliği transplantasyonu terimi yerini kök hücre nakli (KHN) terimine bırakmaktadır.

Nakil fikri letal dozda ışına maruz kalan farelere sağlıklı farelerden verilen K.İ. hücrelerinin alıcıda yaşayabildiğinin gösterilmesi ile başlamıştır (1,2). İlk KHN uygulaması, 1891'de Brown-Sequard ve d'Arsonaval tarafından, K.İ. yetersizliği olan bir hastaya oral yolla K.İ. verilerek yapılmıştır. 1937'de Schretzenmayr paraziter infeksiyonların tedavisinde otolog/allojenik KHN'ni intramüsküler yolla denemiş ve bazı başarılı sonuçlar bildirmiştir. 1939'da Osgood K.İ.'ni intravenöz, 1944'de Bernard intramedüller yolla uygulamışlardır. 1957'de ED Thomas KHN'ndeki ilk başarılı çalışmaları yayınlamış, özellikle tüm vücut ışınlaması (TBI), Graft versus Host Hastalığı (GvHH)'nda methotrexate (MTX) profilaksisi gibi yeni uygulamaları ile dikkat çekmiştir. 1964'de Bach'ın major histokompatibilite sistemini, 1965'de Dausset'in insan lökosit antijen sistemini ve doku gruplarını tarif etmesiyle allojenik KHN'nde yeni bir dönem açılmıştır (3-5).

KÖK HÜCRE KAYNAKLARI

a. KEMİK İLİĞİ

K.İ. hematopoetik kök hücrelerin ana kaynağıdır. Alıcıdan anestezi altında tercihen posterior iliak fossadan K.İ. aspire edilir. Alınan miktar arttıkça alınan üründeki periferik T hücrelerin miktarı da artar. Bu nedenle bir seferde 3-5 ml'den fazla K.İ. aspire edilmemelidir. Ortalama vericinin kilosu başına 10-15 mL toplanır. Hedef allojenik nakillerde 2-6x10⁸, otolog nakillerde 1-2x10⁸ total çekirdekli hücre (TNC) toplamaktır. Yaşa göre değişmekle birlikte sağlıklı bir vericinin 1 ml K.İ.'nde 15-30x10⁶ TNC vardır. Otolog nakillerde hastalar daha önceden kemoterapi gördükleri için ml başına düşen TNC sayısı oldukça azalmıştır. CD34 pozitif hücreler erken progenitör hücrelerin bir göstergesidirler ve normal K.İ. hücrelerinin % 0,5-5'i CD34 pozitif hücrelerden oluşmaktadır. Toplanan K.İ.'ndeki CD34 pozitif hücre sayısı FACS cihazı ile belirlenebilir. Alınan K.İ., agregatlardan ve kemik partiküller-

rinden arındırılmak için kapalı sistem filtreden geçirilir, 1:10 oranında ACDA veya CPDA içeren antikoagülan ile karıştırılır ve ml başına yaklaşık 10 ünite heparin konur. ABO uyumsuzluğu yoksa ve alınan hücrelere in vitro ayıklama (purging) işlemi uygulanmayacaksa alınan hücreler aynı gün i.v. olarak santral venöz kateterden hastaya verilebilir. Otolog nakillerde alınan ürün dondurularak saklanır. Yüksek doz kemoterapi sonrası 37oC su banyosunda eritilerek iv yolla hastaya infüze edilir.

b. PERİFERİK KÖK HÜCRE

Normalde periferik kandaki çekirdekli hücrelerin % 0,06'sı CD34 pozitifdir. Periferik kanda az miktarda kök hücre bulunmaktadır. Bu az miktarda kök hücrenin de çok az bir kısmı S veya G2/M fazındadır.

Sitotoksik tedavi sonrası periferik kanda erken kök hücre prekürsörlerinin sayısı dramatik olarak artar (6). Benzer şekilde donöre rekombinan hematopoetik büyüme faktörlerinin (G-CSF) verilmesi ile de CD34 pozitif hücre sayısı belirgin oranda arttırılabilir. G-CSF'e bağlı kök hücre mobilizasyonu muhtemelen iki mekanizma ile olmaktadır: (1) K.İ.'nde stromal kaynaklı faktör 1 (SCF-1) azalır ve reseptörü CXCR-4 yükselir (upregulate) olur. (2) c-Kit-ligand salgılanmasını sağlayan matris metalloproteinaz 9 aktive olur (7,8). Mobilizasyon için kullanılan büyüme faktörlerinin vericide uzun vadede klonal malignite riskini arttırdığına dair yeterli bir kanıt yoktur. Ancak EBMT kayıtlarında birkaç vericide malignite gelişimi rapor edilmiştir, ama kesin olarak büyüme faktörleri ile ilişkilendirilememiştir. Vericinin yaşı ile ters orantılı olmakla birlikte genelde tek bir lökaferez (nadiren 3 lökafereze kadar çıkılabilir) ile hedeflenen hücre sayısı (en az alıcının kilosu başına 5?10⁶ CD34+ hücre) toplanabilir. Her lökaferezde kan hacminin yaklaşık 2-3 katı kadar miktar işlemde geçirilir. Amaç otolog nakillerde 1-2x10⁶ CD 34 pozitif hücre/ alıcı kg ve allojen nakillerde 4-6x10⁶ CD 34 pozitif hücre/alıcı kg toplamaktır.

PKH'ler K.İ. hücrelerinden farklı olarak daha fazla hedeflenmiş progenitör hücre içerirler, bu hücreler nakil sonrası regenerasyonun Kİ'ne göre daha hızlı olmasını sağlamaktadır(9). Buna karşılık T hücre depleasyonu yapılmamış PKH'ler K.İ'ne göre 10 kat daha fazla T hücre içerirler. Yapılan çalışmalar, bu durumun akut GvHH'na (a GvHH) etkisi olmadığını, ancak kronik GvHH (kGvHH) riskini arttırdığını göstermiştir (10-12). Verici açısından anestezi ve

* İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı & Kök Hücre Nakli Ünitesi, Çapa, İSTANBUL

hastanede kalış gerektirmemesi nedeni ile PKH toplanması çok daha zahmetsiz bir işlemdir. Ancak özellikle 10 kg'ın altındaki çocuk vericilerde aferez işlemi teknik nedenlerle zor olmaktadır.

c.GÖBEK KORDON KANI

İlk kez 1989 yılında kordon kanından elde edilen kök hücrelerin nakilde kullanılabileceği gündeme gelmiştir (13) ve ilk kez Gluckman ve ark tarafından 1989 yılında Fanconi anemili bir hastada uygulanmıştır (14). Kullanımı hızla kabul gören kordon kanı için de Avrupa'da EUROCORD adında bir allojenik kordon kanı bankası kurulmuştur.

Bu hücrelerin çokluğu GvHH riskini azaltmakla birlikte immun rekonstitusyonun geç olmasına neden olmaktadır; bu durum artmış infeksiyon riskini de beraberinde getirmektedir. Kİ. ve PKH'ye göre doku grubu uygunsuz transplantasyonlarda GvHH riski daha az olmakla birlikte kordon kanı transplantasyonlarının başarısı HLA uygunluğu ile doğru orantılı olarak artmaktadır.

Göbek kordon kanındaki kök hücre sayısı periferik kana göre yaklaşık 5 kat daha fazladır. Kordon kanı kök hücrelerinde K.İ ve PKH'ye göre daha fazla sayıda eğitilmemiş T hücresi ve daha az immunokompetan hücre olduğu için GvHH riski de daha azdır. Ancak kök hücreden zengin bir kaynak olmasına rağmen sadece 40-200 ml olması, 2-50x10⁸ TNC ve 0,5-8x10⁶ CD 34 + hücre içermesi nedeniyle özellikle erişkin hastalarda hücre sayısı kilo başına bölündüğünde yetersiz kalmaktadır. Bu kaynak in vitro ekspansiyon gibi işlemler yapılarak kullanılabilir, ama bu yöntemin başarısı da kısıtlıdır. Amaç en az 2-3x10⁷ TNC veya 1,5-2x10⁵ CD 34 +/alıcı kg hücre toplamaktır. Az hücre toplanabilen durumlarda naklin red olma ihtimali yükselmektedir (15,16). Son yıllarda birden fazla göbek kordonunun bir arada kullanılması gibi yöntemler denenmektedir, verilen göbek kordonu hücrelerinden yalnız biri yerleşebilse de rejeksiyon ve engraftman yetersizliği daha az olmaktadır (17,18).

KÖK HÜCRE NAKLİ TİPLERİ

Bugün için KHN'nde 10 değişik hemopoetik hücre kaynağı kullanılmaktadır (Tablo 1).

Allogeneik nakilde amaç kusurlu veya malign transformasyona uğramış olan lenfohematopoetik sistemin sağlam bir sistem ile değiştirilmesidir. Bu sebeple kusurlu veya malign transformasyona uğramış sistemin myeloablatif (immunsupresif) bir hazırlık rejimi ile yok edilmesi gereklidir. Lösemili hastalarda vericinin sağlam immunsistemi antilösemik bir etki de göstermektedir (GvL etkisi).

Otolog nakilde amaç arttırılan kemoterapötik ajan dozu ile antitümöral etkinin de arttırılmasıdır. Bu artan dozda antitümör etki maksimum olmakla birlikte özellikle K.İ. toksisitesi de artmaktadır. Otolog nakillerde hastadan daha önceden toplanan kök hücreler myeloablatif yüksek doz kemoterapi ± radyoterapi sonrası immun rekonstitusyonun sağlanabilmesi için hastaya geri verilmektedir.

Tablo 1. KHN'de kullanılabilecek hemopoetik hücre kaynakları

1. Allojenik KHN
 - a. Doku grubu uygun aile içi verici (MSD, MFD veya MRD)
 - b. Doku grubu kısmen uygun aile içi vericiler (MMFD veya MMRD)
 - c. Doku grubu uygun aile dışı vericiler (MUD)
 - d. Doku grubu kısmen uygun aile dışı vericiler (MMUD)
 - e. Ebevyenlerden yapılan nakiller (haploidentik)
2. Sinjenik KHN - Tek yumurta ikizi verici
3. Otolog KHN
4. Periferik Kök Hücre Nakli (PKHN) - Periferden kök hücre toplanarak KHN
 - a. Otolog PKHN
 - b. Allojenik PKHN
5. Kordon Kanı Nakli
6. Fetal Karaciğer Hücresi Nakli
7. Gen Nakli

Otolog nakillerde allojenik nakillerde bulunan GvL etkisi olmamaktadır. Tedavinin başarısı yüksek doz kemoterapi ile malign hastalığı tamamen ortadan kaldırmaya dayanmaktadır (19).

Halen dünyada çocuklar ve erişkinlerde yılda yaklaşık 45.000 nakil (15.000'i allojeneik, 30.000'i otolog olmak üzere) yapılmaktadır. Tüm dünyada kayıtlı yaklaşık 10 milyonun üstünde gönüllü verici bulunmaktadır. Almanya'da her yıl 400'ü çocuk olmak üzere yaklaşık 3500 nakil yapılmaktadır (20). Türkiye'de 1988-2006 yılları arasında toplam 10 merkezde yaklaşık %80'i allojenik olmak üzere toplam 900 pediatrik KHN yapılmıştır.

GENEL BİLGİLER

KÖK HÜCRELER YOLLARINI NASIL BULUR?

Başarılı bir naklin ilk ve en önemli aşaması kök hücrelerinin kendini yenileme ve diferansiyasyon yetenekleri sayesinde kemik iliğine migrasyonları ve repopülasyonlarıdır (homing).

Hazırlama rejiminde kullanılan kemoterapötikler ve/veya tüm vücut ışınlanması, fizyolojik K.İ. endotel bariyerini de hasara uğratar. Bu hasar "homing" için gerekli olan K.İ. mikroçevresinin tamirinde kullanılacak olan stroma kaynaklı faktör (SDF-1), kök hücre faktörü (SCF), lenfosit fonksiyonu ile ilgili antijen 1 (LFA-1), çok geç antijen 4/5 (VLA 4/5), CD 44 gibi birçok kemokin, sitokin ve proteolitik enzim salgılanmasına ve metalloproteinaz aktivasyonu-na sebep olur.

"Homing" çok hızla gerçekleşir ve en fazla 1-2 gün sürer. Bu sürede dolaşıma verilen kök hücreler kan / kemikliliği endotel bariyerini geçerler ve proliferasyon için buraya yerleşirler. Engraftman için hücre bölünmesi gerekli iken

"homing" için hücre çoğalmasına gerek yoktur (22).

KHN İNDİKASYONLARI

Çocukluk çağı KHN indikasyonları onkolojide ve onkoloji dışı hastalıklarda olmak üzere geniş bir hasta grubunu ilgilendirmektedir (19). İndikasyonlar Tablo 2, 3, 4 ve 5'de sıralanmıştır.

Tablo 2. Pediatrik KHN indikasyonları

Allojenik KHT
a. Onkolojik Hastalıklar
1. Lösemiler
Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL)
Akut Miyeloid Lösemi (AML)
Kronik Miyeloid Lösemi (KML)
Juvenil KML (JKMML)
Myelodisplastik Sendrom (MDS)
2. Lenfomalar
Hodgkin Lenfoma(HL)
Non-Hodgkin Lenfoma (NHL)
3. Ailevi Hemofagositik Lenfositosis (FEL)
4. Solid Tümörler
Nöroblastoma
a. Onkoloji Dışı Hastalıklar
A. Konjenital
İmmün Yetmezlik Sendromları
Hematolojik Sorunlar (Hemoglobinopatiler, Blackfan-Diamond v.b)
Depo Hastalıkları / Mukopolisakkaridozlar
Lizozomal Hastalıklar
Osteopetrozis
B. Edinsel
Ağır Aplastik Anemi
Paroksizmal Noktürnal Hemoglobinüri
Myelofibrozis
Otolog KHT
A.Onkolojik Hastalıklar
1. Lösemiler
ALL
AML
KML
2. Lenfomalar
HL
NHL
3. Solid Tümörler
Nöroblastom (NB)
Ewing Sarkomu (ES)
Rabdomyosarkoma (RMS)
Germ Hücreli Tümör (GHT)
Beyin Tümörleri
Testis Tümörleri
Wilms Tümörü (WT)
Diğer (Histiositozlar, Erişkin tipi tümörler)

KHN İNDİKASYON DERECELERİ:

1: Rutin veya standart tedavi yaklaşımı olarak önerilir

2: Rutin olarak değil fakat ikinci bir tedavi seçeneği olarak önerilir

0: Genellikle önerilmez

KHN İndikasyon Dereceleri:

1: Rutin veya standart tedavi yaklaşımı olarak önerilir

2: Rutin olarak değil fakat ikinci bir tedavi seçeneği olarak önerilir

0: Genellikle önerilmez

Ayrıca literatürde başarılı uygulanmış Kostmann sendromu, Aktin disfonksiyonu, Adenozin deaminaz yetersizliği, Pürin nükleosid fosforilaz eksikliği, Bare lenfosit sendromu, Disproporsiyonel büyüme gelişme geriliği ile birlikte giden immün defektler, Aspartilglukozaminüri, Gaucher tip I/III, Krabbe hastalığı, Niemann-Pick tip B, Wolman hastalığı, Mukopolisakkaridoz tip I, VI, VII, Nöronal seroid lipofusinoz, Fukosidoz, Mannosidoz, Lesh-Nyhan sendromu ve Farber hastalığı olguları vardır.

DONÖR SEÇİMİ

Nakillerde oluşan host versus graft reaksiyonunun (HvG) ve graft versus host reaksiyonunun (GvH) genetik olarak belirlenmiş histokompatibilite faktörleri ile ilişkisi ilk kez Storb ve ark. tarafından gösterilmiştir (23). İnsanlarda major histokompatibilite sisteminin (MHC) ve insan lökosit anti-jen sisteminin (HLA) ayrıntılarının keşfedilmesi ile birlikte kök hücre nakillerinin başarısı da artmıştır. HLA antijenleri vücudun hemen hemen her hücresinde bulunmaktadır, bu antijenler yabancı T lenfositleri tarafından tanınır. HLA do-ku grubundan sorumlu genlere allel adı verilir.

MHC genleri çift olup yarısı anneden yarısı babadan gelmekte ve 6. Kromozomun kısa koluna yerleşik olarak bulunmaktadır. Her birinde nakil için önem taşıyan en az 6 değişik HLA antijeni vardır (Klas I antijenleri: HLA-A, B, C ve Klas II antijenleri HLA-DR, DQ ve DP).

Klas I determinantları 6. kromozomdaki HLA-A, B ve C genlerince kodlanan ağır bir alfa polipeptid zincirinden ve 15. kromozomda kodlanan hafif bir beta 2 mikroglobulin zincirinden oluşurlar.

Klas II determinantları ise 6. kromozomdaki HLA-DR, DQ ve DP genlerinin kodladığı iki polipeptid zincirden oluşurlar. Klas I antijenler tüm çekirdekli hücrelerin membranında taşınırken Klas II antijenler sadece monositler, aktive B ve T lenfositleri ile Langerhans ve dendritik hücrelerin yüzeyinde bulunabilmektedirler.

Doku grubu uygunluğu için ilk başlarda sadece serolojik yöntemler ve mikst lenfosit kültürü ile HLA Klas II kompleksinin uygunluğu aranıyordu (24). Ancak artık çok daha gelişmiş yöntemlerle çok daha geniş bir HLA gruplaması yapılabilmektedir.

Hücre yüzeyinde bulunan HLA grupları ve onlara ait alleller serolojik yöntemlerle belirlendiklerinde (mikrolenfositotoksitesite testi) 2 haneli bir sayı ile ifade edilirler (Örneğin A02, DR04). HLA allellerinin yüksek çözünürlükte gen tiplendirmesi ise en az 4 haneli bir sayı ile ifade edilir ve eklenen * işareti ile DNA tiplendirilmesi yapıldığı ifade

Tablo 3. Avrupa KHN (EBMT) birliğinin pediatrik onkolojik hastalıklarda KHN indikasyonları (21) (Türk Pediatrik Kök Hücre Nakli grubu Türkiye'de de tablolarda özetlenen indikasyonların uygulanmasına karar vermiştir).

Hastalık	Yaş	Hast. Durumu	AlloKHT Kardeş	Panel	OKHT
AML	Çocuk	1.TR	R	AP	R
		≥ 2. TR	R	AP	R
		Relaps	GP	Ö	Ö
ALL	Çocuk	İyi Risk 2. TR	R	AP	R
		Kötü Risk 1. TR	GP	AP	R
KML	Çocuk (< 20y)	Kronik	R	R	AP
		Akselere	R	GP	AP
		Blastik	GP	Ö	Ö
NHML	Çocuk	2.TR	R	AP	R
		PR, 1. Relaps	R	AP	R
HL	Çocuk	1.TR	Ö	Ö	AP
		1. Relaps, 2., 3. TR	AR	GP	R
		Refrakter	Ö	Ö	GP
MDS	Çocuk	RA, RARS, RAEB, KMMoL	R	R	AP
		RAEBt, sAML-1., 2.TR	R	GP	AP
Solid Tm.					
NB	Çocuk	E IV	Ö	Ö	AP
WT	Çocuk	-	Ö	Ö	AP
Medulloblastom	Çocuk	-	Ö	Ö	GP
ES	Çocuk	Yüksek Risk	Ö	Ö	AP

R - Rutin Kullanım Ö - Önerilmez AP - Araştırma Protokolü GP -Geliştirilen Protokol TR -Tam Remisyon PR -Parsiyel Rem.

edilir (örneğin A* 0201, DRB1* 0401).

HLA allellerinin sayısının fazlalığı ve kombinasyon olanaklarının çokluğu teorik olarak doku grubu uygun bir vericinin bulunmasını imkansız hale getirmektedir. Ancak pratikte toplumda bazı HLA grupları daha fazla sıklıkta bulunmaktadır ve bazı haplotipler genellikle aynı özellikleri taşımaktadırlar (linkage disequilibrium). Örneğin HLA-A1, B08,DR03 haplotipinin matematiksel olarak sıklığı %0,02 iken toplumdaki sıklığı % 6,1 'dir. Bu nedenlerle, verici seçimi için kesin kriterlere ihtiyaç vardır (25, 26).

İdeal verici HLA genotipik olarak benzer kardeştir. Ancak böyle bir vericinin olma olasılığı yaklaşık % 20-30 civarındadır. Verici aramasında HLA-A, B, C, DRB1 ve DQB1'in yüksek çözünürlükte bakılması zorunludur. Genel olarak verici bankalarından uygun verici bulma olasılığı da yaklaşık %50-80 civarındadır.

Günümüzde merkezler arasında farklılıklar olmakla birlikte alta yatan hastalık, hastanın yaşı, naklin aciliyeti, eşlik eden komorbidite göz önüne alınarak MUD nakillerde 12/12 uyum idealdir, ancak en az 8/10 uyum aranmaktadır. 8/10 uyumlu MUD nakil alternatifi olarak bazı merkezler haploidentik nakilleri tercih etmektedirler.

HAZIRLAMA REJİMLERİ

Hazırlama rejimlerinin gerekliliği:

- Malign hastalıklarda vücutta kalmış olabilecek tüm anormal ve defektif hücrelerin yok edilmesi (allojeneik, otolog ve singeneik nakiller için gerekli)
- Donörün reddinin önlemek için alıcının immunitesinin baskılanması (otolog ve singeneik nakillerde gerekli değil)
- "Homing"i ve repopülasyonu sağlayacak sitokinlerin salınımının sağlanması
- Aplastik anemi gibi bazı otoimmün hastalıklarda hemopoetik rekonstitusyonu olumsuz olarak etkileyebilecek otoimmün reaktivitenin azaltılması için immunosupresyon.

Eskiden inanılan hazırlama rejimi ile yeni K.İ'ne yer açma düşüncesi ve gerekliliği artık geçerliliğini yitirmiştir. Donör hücrelerinin engraftman ve ekspansiyon için gerekli yeri kendilerinin yarattıklarını gösterir güvenilir kanıtlar bulunmaktadır (27). Sadece ağır immun yetmezlik sendromlarında, haploidentik nakiller için bile, hazırlama rejimlerine gerek yoktur (28, 29).

HAZIRLAMA REJİMLERİ

TOTAL VÜCUT IŞINLAMASI (TBI)

TBI eksternal ışın kullanılarak yapılır. Sistemik kemoterapiye göre en önemli üstünlüğü testis ve beyin gibi korunaklı, ulaşılabilen dokuların olmayışı, klonal direnç gelişiminin çok nadir olmasıdır. Kantitatif radyasyonun, dozimetrik ölçümler sayesinde güvenilirliği de yüksek orandadır. Gün-

Tablo 4. Pediatrik KHN İndikasyonları (Türk Pediatrik KHN grubu) 2007

HASTALIK	TIPI ve EVRESİ	ALLO-KIT uygun verici	ALLO-KIT diğer verici	OTOLOG KIT
AML	TR-1 Düşük risk	0	0	0
	TR-1 Yüksek risk	1	2	1
	TR-1 Çok yüksek risk	1	1	0
	TR-2	1	1	1
	> TR-2	2	0	0
ALL	TR-1 Düşük risk	0	0	0
	TR-1 Yüksek risk	1	2	0
	TR-2	1	1	2
	>TR-2	1	1	2
KML	Kronik faz	1	1	0
	İleri evre	1	1	0
MDS		1	1	0
NHL	TR-1 Düşük risk	0	0	0
	TR-1 Yüksek risk	2	2	2
	TR-2	1	1	2
HODGKİN HASTALIĞI	TR-1	0	0	0
	TR-2	2	0	1
SOLİD TUMÖRLER	Germ hücreli tm	0	0	2
	Ewing sarkom (Yüksek risk / > 1. remisyon)	0	0	1
	Yumuşak doku sark. (Yüksek risk / > 1. remisyon)			
	Nöroblastom			
	Yüksek risk	2	0	1
	>1. remisyon	2	0	1
	Wilms tümörü	0	0	2
	Osteosarkom	0	0	0
	Beyin tümörü	0	0	1
TALASEMİ		1	2	0
ÖRAK HÜCRE ANEMİSİ	Yüksek risk	1	2	0
APLASTİK ANEMİLER	Akkiz	1	1	0
	Fankoni	1	1	0

lük ışınlama dozu, fraksinyasyon ve total doz başarılı bir hazırlama rejimi için rol oynayan faktörlerdir. Günlük tek doz yerine fraksiyona TBI uygulaması radyasyona bağlı interstisyel pnömoni, katarakt, büyüme ve gelişme geriliği sıklığını ve şiddetini azaltmıştır (30). Ayrıca fraksiyonlar arasındaki sürede hipoksiye uğrayan hücreler reoksijene olur ve radyasyona daha duyarlı hale gelirler, böylece maksimal sitoredüksiyon ve immunosupresyon yapılmış olur.

Çok değişik görüşler olmasına rağmen en sık uygulanan yöntem 3 gün içinde toplam 6 fraksiyonda kumulatif olarak 1200 cGy uygulanmasıdır. TBI ile verilebilecek maksimum kümülatif radyasyon dozu 14-15 cGy'dir. Özel kursun bloklar kullanılarak akciğer, böbrek gibi organların korunmasına çalışılmaktadır. Yan etkiler düşünülerek özellikle malign olmayan hastalıkların tedavisi için uygulanan ışınlama yöntemlerinde TBI'dan kaçınılmaya çalışılmaktadır. TBI genellikle kemoterapötik ajanlarla (sıklıkla Siklofosamid, etoposid ve melfalan) birlikte kullanılmak-

tadır. Bazı malign hastalıklarda CD20, CD45 gibi antijenlere yönelik monoklonal antikorlarla veya I131 ile hedefli ışınlama uygulamaları gündeme gelebilir. En önemli yan etkileri bulantı, kusma, ishal, cilt irritasyonu, parotit, mukozit ve alopesidir. Geç yan etki olarak interstisyel pnömoni, katarakt, karaciğer, böbrek bozukluğu, diş zararı, merkezi sinir sistemi bozuklukları, hipofiz ve tiroid hormon salgısı bozuklukları, gonadal fonksiyon bozuklukları ve ikincil tümörler sayılabilir.

KEMOTERAPİ

Çoğu protokollerde kemoterapötik ilaçlar, özellikle siklofosamid (CPM; 120–200 mg/kg, 2–4 gün) hazırlama rejimlerinde kullanılmaktadır. Aplastik anemi ve Fanconi anemisinde CPM tek başına veya antitimosit globulin (ATG) ile beraber kullanılmıştır. CPM busulfan (Bu) ve ATG ile kombine edilebilir. Ancak Bu'nun oral olarak alınması ve buna bağlı olarak kişilere göre biyoyararlanımının farklılığı ve plazma konsantrasyonunun standardize edile-

Tablo 5. İmmünYetmezlikler & Bazı Metabolik Hastalıklarda KHN İndikasyonları (Türk Pediatrik KHN grubu) 2007

HASTALIKLAR	ALLO-KİT Tam uygun kardeş	ALLO-KİT 1 antijen uygunsuz aile	ALLO-KİT Tam uygun aile dışı verici	ALLO-KİT Haploidentik aile bireyi
SCID	1	1	1	1
Blackfan-Diamond anemisi	1	2	2	0
MPS-1 H Hurler	1	1	1	2
MPS-1 H Hurler Scheie (ağır)	0	0	0	0
MPS-VI Maroteaux-Lamy	2	2	2	2
Osteopetrozis	1	1	1	1
Diğer depo hastalıkları	0	0	0	0
Otoimmün hastalıklar	0	0	0	0

memesi etkinliğini şüpheli hale getirmektedir. Bu plazma düzeyinin 900 ± 100 ng/mL arasında tutulması ile KHN sonrası relaps insidansının azaltılabileceği gösterilmiştir (31,32). Son yıllarda intravenöz kullanımı da yaygınlaşmaya başlamıştır (33,34). Hazırlama rejimlerinde kullanılabilen diğer ilaçlardan biri de fludarabindir.

BİOLOJİK AJANLAR

Alıcının immune sistemini baskılamak için T hücre antijenlerini veya adhezyon moleküllerini hedef alan ATG gibi poliklonal antikör preparatları kullanılabilir.

Direkt kanser hücrelerini hedef alan radyoaktif olarak işaretlenmiş anti-CD 45 gibi spesifik monoklonal antikörler da hazırlama rejimlerinde kullanılmaktadır (35).

Ayrıca anti CD33 monoklonal antikörleriyle konjuge edilmiş kemoterapötik ajanların da kullanımı gündemdedir.

LENFOHEMATOPOETİK REKONSTITUSYON

Kök hücre kaynağı, nakil edilen hücre sayısı, uygulanan ayırıştırma işlemlerine bağlı olarak değişmekle birlikte allojenik nakil sonrası granülopoez ve eritropoezin başlaması 2-4 hafta sürer. ABO major uygunsuzluğu olan durumlarda eritropoez daha da gecikebilir. Trombopoezin yeterli hale gelmesi ise genellikle daha uzun sürer, 1-2 ayı bulabilir. Büyüme faktörlerinin granülopoezi hızlandırdığına dair literatürde çelişkili bulgular olsa da genellikle transplantasyonu takiben 5. günde 3-5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dozundan G-CSF başlanır.

Otolog nakiller sonrası immunolojik rekonstitüsyon 3 ay içinde olur. Allojen transplantasyonlarda eğer T hücre deplesyonu yapılmadıysa önce pasif spesifik immünite transferi söz konusudur, ancak aktif T hücre rekonstitüsyonu 3 ay, B hücre rekonstitüsyonu 6 ay sürer (36). Ancak araya giren infeksiyonlar (özellikle virüsler), kullanılan ilaçlar (özellikle antivirüs ilaçları) GvHH ve tedavisinde kullanılan immunsupresyon gibi nedenler immun rekonstitüsyonu olumsuz yönde etkiler.

Engrafman tanımı:

1. Nötrofil sayısına göre: Arka arkaya 3 gün boyunca mutlak nötrofil sayısının $> 500/\text{mm}^3$ veya $1000/\text{mm}^3$ olduğu ilk gün
2. Trombosit sayısına göre: Trombosit transfüzyonu desteği olmaksızın arka arkaya 3 gün boyunca trombosit sayısı-

nın $> 20.000/\text{mm}^3$ veya $> 50.000/\text{mm}^3$ olduğu ilk gün

3. Lenfoid rekonstitüsyon derecesine göre yapılır. Allojenik nakiller sonrası kimerizm analizleri ile engraftman takip edilebilir. Engraftman takip yöntemleri aşağıda sıralanmıştır:

1. Alıcı ve vericinin cinsiyetinin farklı olduğu durumlarda florasan in situ hibridizasyon yöntemi (FISH)
2. Alıcı ve vericinin cinsiyetlerinin aynı olduğu durumlarda VNTR (Variable number tandem repeat)
3. Alıcı ve vericinin doku grupları farklı olduğu durumlarda HLA doku grubu belirlemesi
4. Alıcı ve vericinin kan gruplarının farklı olduğu durumlarda kan grubu belirlemesi
5. Donörün immunglobulin allotipinin belirlenmesi
6. Bazı metabolik veya konjenital hastalıklarda özgün enzim aktivitesi belirlenmesi (örneğin ağır kombine immün yetersizlikte lökositlerde adenosin deaminaz varlığının gösterilmesi)

MİKST KİMERİZM VE NONMYELOABLATİF PROTOKOLLER

Kimerizm incelenen örnekte alıcı kökenli olmayan lenfohematopoetik hücrelerin saptanmasıdır. Tam kimerizm transplantın stabilitesini ve altta yatan hastalığın ortadan kalktığını gösterir. Eğer verici - alıcı toleransı alıcının hücrelerinin %2.5 - 97.5'nun kalmasına olanak veriyorsa bu durumda stabil mikst kimerizmden sözedilir. Özellikle lösemili hastalarda mikst kimerizmin yüksek relaps riski taşıdığı gösterilmiştir (37,38).

Genellikle ablatif pretransplant hazırlık rejimleri ile alıcının T hücreleri öldürülür ve postransplant immunsupresyon ile vericinin T hücreleri baskılanır. İmmunolojik intolerans durumlarında (alloreaktif alıcı T lenfositlerinin sağ kalması durumunda) graft reddi ve GvHH (donor T-hücrelerinin alloreaktivitesi sonucu) oluşur. Antijen sunan hücrelerin yüzeyinde bulunan MHC peptidleri ko-stimulator sinyaller olmadan T hücreleri ile interaksiyona girerlerse klonal anergi denilen bir durum oluşur. Böylece T hücresi sunulan antijene karşı anerjik kalır. Benzer şekilde alloimmünitenin aktif supresyonu supresör T hücreleri, doğal supresör hücreler tarafından da meydana gelebilir. Malign hastalıklarda mikst kimerizm genellikle pretransplant hazırlık rejiminin yetersizliğinin ve donör hücrelerinin T hü-

re depresyonu yapılamamasının bir sonucudur (38-40). Nonmyeloablatif rejimler ile alıcının hücrelerinin bir kısmının kalması sağlanarak bu hücrelerin graftın antitümör etkisinin (adoptif immunoterapi) canlı tutulması hedeflenmektedir.

Mikst kimerizimli hastalarda GvHH riski de azalmaktadır, ancak buna karşılık GvL etkisinde azalma ve malign hastalıklarda relaps riski yükselmektedir (38,39,41-44). Ancak malign olmayan hastalıklarda mikst kimerizm yeterli terapötik etkiyi sağlayabilmekte ve uygulanan hazırlık rejiminin toksisitesinin yarattığı morbidite ve mortaliteyi azaltabilmektedir. Özellikle SAA 'lı hastalarda ve beta talasemili hastalarda ve bazı herediter hastalıklarda mikst kimerizme bağlı olarak GvHH'nın şiddetinin azalması sağ kalımı olumlu yönde etkilemektedir (39, 41, 45,46).

Talasemili ve orak hücreli anemili hastalarda mikst kimerizmin sağlıklı hematopoez için yeterli olabildiği gösterilmiştir (47). Bu nedenle nonmyeloablatif rejimler graft versus tümör etkisinin aranmadığı hemoglobinopatiler, genetik hastalıklar, immun yetersizlikler ve otoimmün hastalıklarda transplantasyona bağlı immunolojik ve toksik yan etkilerin azalmasını sağlamak ve genel sağ kalımı olumlu yönde etkilemektedirler.

ALINAN KÖK HÜCRELERİN NAKİL ÖNCESİ İŞLENMESİ

Minör ABO kan grubu uygunsuzluğunda hemolizin önlenmesi için sentrifuj ile plazma depresyonu, major kan grubu uygunsuzluğunda ise HES sedimantasyon yöntemi ile eritrosit depresyonu yapılmalıdır.

GvHH riskini azaltmak için T hücre depresyonu yapılması zahmetli ve pahalı bir yöntemdir. İki veya daha fazla uyumsuz olan durumlarda T hücre depresyonu yapılması mutlaka gereklidir. İşlem sonunda $0,5-1 \times 10^5$ /kg alıcı 'dan daha az sayıda T hücre kalmalıdır. İşlem sırasında CD344 hücre kaybının kaçınılmaz olması göz önünde bulundurulmalıdır.

Otolog nakillerde ürünün tümörlü hücrelerden arındırılması (tumor cell purging) söz konusu olabilir. Ancak bu işlemin gerekliliği halen tartışmalıdır.

DONDURMA İŞLEMİ

Kristal gelişimi veya dehidratasyon ile hücrelere zarar verilmemesine dikkat edilmesi gereklidir. En önemli aşamalar olgun kan hücrelerinin ayrıştırılması, koruyucu olarak dimetilsülfoksit (DMSO) kullanılması, plazma protein konsantrasyonunun ilavesi, kontrollü ve aşamalı dondurma (dakika 1-3 C0) ve ürünün -130 C0 veya altında saklanmasıdır. Deneysel ve klinik araştırmalar uygun şartlarda dondurulan ürünlerin 10 yıl canlı kalabildiklerini göstermektedir. Eritme işlemi + 37 C0 'de ve hızla yapılmalı, eritilen ürün hemen hastaya verilmelidir.

NAKİL ÖNCESİ VE SONRASI BAKIM

KHN altta yatan hastalığın getirdiği sorunlar, KHN uygulanan tedaviler, hazırlama rejiminin immunosupresif ve toksik etkileri, alıcı hücrelerinin verici hücreleri ile inte-

raksiyonu gibi birçok faktör nedeni ile karmaşık bir tedavi yöntemidir. Bu nedenle çok yönlü bir destek tedavisi ve profilaksi gerektirmektedirler.

Kan ve Kan Ürünlerinin Transfüzyonu

Nonmyeloablatif hazırlama rejimleri dışında tüm hastalar hazırlama rejimleri ile nakil öncesi dönemden engraftmana kadar derin bir pansitopenidedirler. Pansitopeni KHN'nde en az 3-4 hafta, PKHN'nde 10-12 gün sürer. Kordon kanı kullanıldığında ise bu süre 5-6 haftaya kadar uzayabilir. G-CSF ve GM-CSF kullanımı bu süreyi biraz daha kısaltabilir. PKHN'nde büyüme faktörü kullanımı engraftman süresine çok fazla etki etmemektedir (48,49). Tüm hastaların bu dönemde yoğun eritrosit süspansiyonu ve trombosit süspansiyonu desteğine ihtiyaçları vardır. Eritropoetin kullanımı transfüzyon ihtiyacını bir miktar azaltabilir (50). Thrombopoietin (megakaryosit büyüme ve diferansiyasyon faktörü) ve IL-11 kullanımının trombosit transfüzyon ihtiyacı üzerine belirgin olumlu etkisi olmaktadır.

İnfeksiyonlar

Transplantasyona bağlı morbidite ve mortalitenin en büyük nedeni infeksiyonlardır. Özellikle transplantasyonu takip eden ilk 2-4 haftada bakteriyel infeksiyonların sıklığı artmaktadır. Bu nedenle klinik şüphe durumunda vakit kaybetmeksizin özellikle Gram negatif bakterileri, son yıllarda artan sıklıkta gram pozitif bakterileri de kapsayacak geniş spektrumlu antibiyoterapiye başlanmalıdır. Nötropeni fazında ortaya çıkan sepsis hayatı tehdit edici olabileceği için kontrol altına alınamayan klinik bulgularda hızla antibiyotik değişimi düşünülmelidir. İnfeksiyonlardan korunmak için hastaların izolasyonu, hastanın bulunduğu oda ve/veya serviste su ve hava filtrelerinin kullanımı, mikropsuz beslenme, invazif girişimlerde steriliteye dikkat edilmesi, bağırsak dekontaminasyonu, vücut hijyeninin sağlanması, ağız gargaraları gibi önleyici yöntemler hastanın nakile hazırlık aşamasından itibaren başlanmış olmalıdır (51). Nakil hastaları mantar enfeksiyonları açısından da çok yüksek risk taşımaktadırlar. Candida türleri genelde lokal invazif bir seyir izlerken aspergillus enfeksiyonları çok invazif bir seyir gösterebilirler. Nötropeni süresinin uzaması, GvHH mantar enfeksiyonu riskini belirgin olarak arttırmaktadır. Gelişen laboratuvar ve radyolojik yöntemlere rağmen mantar enfeksiyonunun kanıtlanması çok güç olduğundan klinik şüphe varlığında vakit kaybetmeksizin antibakteriyel tedavi yanda antimikotik tedaviye de başlanmalıdır. Tedavide Amphotericin B, azol türevleri, glukon sentetaz inhibitörleri düşünülebilir. Candidaya bağlı mortalite ve morbiditenin önlenmesinde transplantasyon sonrası 2-3 aylık dönemde flukonazol kullanımının etkinliği gösterilmiştir. Itraconazole, voriconazole ve caspofungin gibi antifungal ilaçların profilaktik kullanımı da uygulanabilir.

Nakil hastalarında HSV, VZV, CMV, EBV, adenovirüs, RSV ve HHV-6 virüsleri ile yeni enfeksiyon veya reaktivasyon çok ciddi problem oluşturmaktadır. Yeni enfeksiyonlar sıklıkla transfüzyonlarla bulaş sonucu oluşmakta iken re-

TABLO 6. Akut GvHH evrelemesi

Tutulan organ	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4
Cilt (eksanem yüzdesi)	0–25	25–50	>50	Bül oluşumu
Bağırsak ml olarak günlük ishal	>500	>1000	>1500	İleus
Karaciğer (mg/dl bilirubin)	2–3	3–6	6–15	>15

TABLO 7. Toplam akut GvHH evresi

Toplam evre	Cilt tutulum evresi	Bağırsak tutulum evresi	Karaciğer tutulum evresi
0	0	0	0
I	1–2	0	0
II	1–3	1	1
III	2–3	2–3	2–3
IV	2–4	2–4	2–4

aktivasyon daha sık gözlenen bir durumdur. Özellikle alıcının virüs yükü yokken verici de virüs yükü bulunması en tehlikeli kombinasyonlardan biridir (52). Nakil sonrası "herpes simplex" virus ve VZV reaktivasyon oranı 80% - 90% civarında olduğu için transplantasyonu takip eden 2–3 ay boyunca asiklovir profilaksisi önerilmektedir. Bazı merkezler haftalık profilaktik Ig kullanımı da önermektedirler, ancak yapılan çalışmalar sadece Ig G düzeyi 400 mg/L altında olan hastaların böyle bir uygulamadan yarar gördüğünü göstermektedir.

Viremiye bağlı mortalite ve morbidite altta yatan hastalığa, nakil şekline (T hücre depleksyonu yapılmış nakillerde ve kordon kanı nakillerinde daha fazla), aGvHH varlığı ve derecesine, GvHH tedavisinin yoğunluğuna, hastanın yaşına ve nakil öncesi alıcı-verici virüs yüküne bağlı olarak değişir. Pediatrik hastaların sadece %25'i posttransplantasyon döneminde viremiye bağlı sorun yaşamazlar. Geri kalan hastalarda bir veya birden çok virüsle viremi ve klinik tablo gözlenir. Viremi çok hızlı bir şekilde çoklu sistem yetersizliği yapabileceği gibi inflamatuvar süreci başlatarak ve T hücrelerini aktive ederek ağır GvHH tablolarına neden olabileceği için daha klinik bulgular olmadan surveyans takibine göre erken dönemde preemtif viral tedavi günümüzde bir çok nakil merkezinde rutin hale gelmiştir (53,54). Diğer virüs enfeksiyonları için birçok etkin antiviral ilaç bulunmaktadır (gansiklovir, sidofovir, ribavirin, foskarnet, valacyclovir) (55). Özellikle T hücre depleksyonu yapılan hastalar, HLA uygunsuz nakil yapılan hastalar ve in vivo anti T hücre tedavileri almış hastalarda EBV reaktivasyonu riski artmıştır. Bu hastalarda Anti-CD20 antikoru kullanımının (rituximab, 200- 375mg/m²) kandaki EBV virus titresini belirgin olarak azalttığı gösterilmiştir.

Ancak tüm bu antivirallerin en büyük yan etkisi T hücreleri üzerine olan toksisiteleridir.

Pneumocystis jirovecii (carini) profilaksisi için Trimetoprim-sulfametoksazole kullanımı özellikle kronik GvHH hastalığı olan hastalarda önem taşımaktadır

Mukozit ve gastroenterite bağlı olarak hastaların büyük bölümünün oral alımı ve oral alınan besinlerden biyoyararlanımı çok düştüğünden hastalara parenteral besin ve sıvı desteği planlanmalıdır.

GRAFT-VERSUS-HOST Hastalığı

GvHH KHN'nin en sık görülen komplikasyonudur. HLA identik nakil yapıp profilaktik olarak hergün CyA ve 1, 3, 6 ve 11'nci günlerde oral MTX'in alan hastaların 10%-50% 'sinde ve alternatif donörlerden nakil yapılan hastaların 50%- 90%'nında gelişir.

AGvHH sıklıkla transplantasyonu takip eden ilk 1 ay içinde ortaya çıkar. HLA-uygun olmayan transplantlarda aGvHH gelişimi hiperakut yani transplantasyonu takip eden ilk günler içinde olabilir. Nonmyeloablatif hazırlık rejimi almış olan hastalarda aGvHH 4- 5 ay sonra bile başlayabilir GvHH her organ sisteminde olabileceği gibi hedef organları sıklıkla cilt, KC, intestinal sistemdir. GvHH evreleme sisteminde de sadece bu üç sistem göz önünde tutulmaktadır. (bakınız tablo 6,7)

Araya giren viral ve bakteriyel enfeksiyonlar organ toksisitesi, T hücre aktivasyonu ve sitokin salınımı ile akut GvHH' nı başlatabilir veya mevcut GvHH'nı arttırabilirler. Selim hastalıklarda her düzeyde GvHH'ndan kaçınılmaya çalışılmalıdır. Ancak malign hastalıklarda GvHH'nın GvL etkisi de göz önüne alındığında en fazla evre 2'ye kadar bir akut GvHH'na izin verilebilir.

Alıcı ve verici hücrelerinin interaksiyonu sonucu alıcı T hücreleri aktive olarak klonal bir ekspansiyon gerçekleştirirler. (GvHH'nin afferent fazı) T hücrelerinin bu aktivasyonu sitokin salınımına, sekonder efektör hücrelerin olaya katılmasına, alıcının hedef hücrelerinin ve dokularının hasarlanmasına sebep olur (efferent faz)

Bu gelişmeler sadece MHC "klas I" veya "klas II" antijen uygunsuzluğu olan nakillerde değil, HLA uygun akraba nakillerinde de görülür. Çünkü MHC sistemi dışında da non HLA veya minor antijen kodlayan genler vardır. Singeneik nakillerde ve otolog nakillerde de çok nadiren kendi antijenlerine karşı uygunsuz bir reaksiyon olmasına bağlı olarak GvHH benzeri tablolar oluşabilir (56,57).

Hazırlama rejimi ile oluşan timus hasarı intratimik seleksiyonu bozar ve otoreaktif hücrelerin periferik kaçışına sebep olur. Bu mekanizma singeneik ve otolog nakil sonrası görülen akut GvHH'nı açıklayabilir. Alınan kemik iliğinde T hücre depleksyonu yapılmasının akut GvHH'nı belirgin öl-

Tablo 8. Kronik GvHH evrelemesi

Subklinik kronik GvHH	Klinik bulgu olmaksızın pozitif histoloji
Sınırlı kronik GvHH	Lokalize cilt tutulumu ve/veya GvHH 'na bağlı Karaciğer tutulumu
Yaygın kronik GvHH	Yaygın cilt tutulumu veya GvHH 'na bağlı Karaciğer tutulumu ve bunlara ek olarak: <ul style="list-style-type: none"> • Karaciğer biyopsisinde kronik agresif hepatit, nekroz veya siroz varlığı, • veya göz tutulumu (Schirmer testi < 5 mm) • veya biyopsi ile kanıtlanmış tükürük bezi ve/veya ağız mukozası tutulumu, veya akciğer, böbrek gibi başka organların tutulumu

çüde azalttığı ancak buna karşılık graft yetersizliği riskini artırdığı gösterilmiştir (58,59).

T hücre depleasyonu yapılmaksızın aplastik anemilerde graft yetersizliği oranı yüksek olduğundan bu grup hastalara T hücre depleasyonu önerilmektedir. GvHH uzun dönem sağkalımı etkileyen en önemli faktörlerden biridir ve malign olmayan hastalıklarda hastaya ek bir avantaj getirmemektedir.

Kronik GvHH (kGvHH) HLA uygun nakillerde 20% - 50%, HLA uygunsuz nakillerde 30%- 60%'dır. Kronik GvHH gelişimi için en önemli risk faktörü akut GvHH'nin varlığıdır. Ancak kronik GvHH öncesinde akut GvHH olmadan da transplantasyonu takip eden 100. günden sonra ortaya çıkabilir. Kronik GvHH'nin en erken bulguları 50-60.günlerde olabilir. Bulgular için tablo 8'e bakınız.

Genel olarak çocukluk çağında kronik GvHH sıklığı %10-15 civarındadır. Patofizyolojik olarak akut formdan farklıdır ve otoimmün bir komponenti de vardır. Ciltteki manifestasyonları liken planus, poikilodermi, lökodermi, pemfigoid, sklerodermi ve polimiyozit şeklinde olabilir. Kalıcı alopesi, tırnak kaybı, "konjonktivitis sicca", biliyer siroz, obstrüktif akciğer hastalığı, disfaji şeklinde ortaya çıkabilir. Agresif immunosupresif tedaviye rağmen hastalarda kronik GvHH kontrol altına alınamayabilir (60).

Allojeneik nakillerden sonra tüm hastalar değişik oranlarda GvHH yaşarlar (61). GvHH'ni kontrol altına almak için methotreksat, siklosporin (CyA), glukokortikoidler, FK506 (takrolimus), mycophenolate mofetil, sirolimus gibi immunosupresif ajanlar tek başlarına veya kombinasyon halinde kullanılabilirler (62).

GRAFT YETERSİZLİĞİ

Graft yetersizliği nakil öncesi dönemde uygulanan transfüzyonlarla histokompatibilite antijenlerine karşı sensitize olanlarda ve MHC "klas I" uyumsuzluğu olan nakillerde daha fazla görülmektedir (23,63).

Peritransplantasyon döneminde "anti-human" monoklonal antikorlarının (ör. Campath IG) veya immunotoksin konjugatlarının veya ATG kullanımının toksisiteyi arttırmadan graft yetersizliğini azaltabileceğini gösteren çalışmalar vardır (59,64). Graft yetersizliğini etkileyen faktörlerin başında hazırlama rejiminin çeşidi ve şiddeti, altta yatan hastalık (aplastik anemilerde lösemilere göre daha fazla oranda) alıcının T ve NK fonksiyonlarının devam ediyor olması, HLA uygunsuz nakiller, kök hücre kaynağı ve verilen hücre sayısı (kordon kanı nakillerde, T hücre depleasyonu

nu yapılan nakillerde ve haploidentik nakillerde graft yetersizliği en fazla gelmektedir.

GEÇ KOMPLİKASYONLAR

KHN'nin uzun dönem komplikasyonları aşağıda özetlenmiştir;

- Endokrin bozukluklar (hipotiroidi, puberte gecikmesi, gonad yetersizliği, büyüme gelişme geriliği)
- İkincil maligniteler
- Katarakt
- Böbrek yetersizliği
- Obstrüktif ve restriktif akciğer hastalığı
- Kardiyomyopati
- Aseptik nekroz, osteopeni
- Lökosefalopati
- İmmunolojik disfonksiyon
- Post transplantasyon lenfoproliferatif hastalık
- Diş bozuklukları

Hastaların nakli izleyen yıllar içinde gelişebilecek geç komplikasyonlar açısından yakın takibi gereklidir.

ÇEŞİTLİ HASTALIKLARDA TRANSPLANTASYON SONUÇLARI

I.Maligniteler

Akut Lenfoblastik Lösemi

Çocukluk çağı akut lösemilerinin yaklaşık %80'i, relapslarının yaklaşık %40'ı sadece kemoterapi ile tedavi edilebilmekte olduğundan ALL'de nakil sadece bir grup yüksek riskli hasta ile sınırlıdır. Yüksek risk kriterleri (bazı translokasyonlar, tedavi yanıtının süresi, minimal rezidüel hastalık, hasta yaşı, immunfentotipik özellikler gibi) tedavi protokollerine göre farklılıklar göstermekle birlikte ilk hastalıkta nakil endikasyonu olan ALL hastaları sadece % 6-10 civarındadır. Amaç yüksek riskli hastalarda sadece kemoterapi ile % 30-40 olan sağaltım oranını nakil ile %70'ler düzeyine çıkarabilmektir. Özellikle doku grubu uygun aile içi, vericilerden yapılan nakillerde başarı oranı oldukça yüksektir (65,66). Nakile bağlı mortalite ve morbiditenin göze alınabilmesi için başarı şansının sadece kemoterapi alanlara göre en az %20-30 daha fazla olması gereklidir (21,67,68). Relaps hastalarında hazırlık rejiminde tüm vücut ışınlanması uygulanmasının prognozu olumlu yönde etkilediği görüldüğünden 2 yaşından büyük hastalarda radyokemoterapi ile hazırlık rejimi yapılması önerilmektedir.

Akut Miyeloid Lösemi

Çocukluk çağı AML vakaları ALL'ye göre belirgin olarak azdır ve prognozu da belirgin olarak kötüdür, buna rağmen, yeni AML'deki nakil indikasyonları, halen tam bir uzlaşmaya varılamamış bir konudur. Yüksek riskli olarak tanımlanan çocuklarda HLA-uygun kardeşten allojenik KHT kesin bir indikasyondur. Hastaların yaklaşık 2/3'ü yüksek risk grubuna girmekte ve sadece kemoterapi ile iyileşme olasılıkları % 30-45 olmaktadır. Yapılan çalışmaların çoğunda, Allo KHT kemoterapiden daha etkin bulunmuştur; TR1'de yapıldığında EFS çocuklarda %55 – 72 arasındadır. OKHT, AML'li çocuklarda genellikle indüksiyon sonrası TR1'de bir konsolidasyon tedavisi olarak kullanılmıştır ve yüksek riskli ve uygun bir kardeş vericisi olmayan çocuklarda geçerli bir alternatiftir (19,69). OKHT yapılan AML'li çocuklarda, periferik kök hücre kullanılması sık bir uygulama değildir, çünkü yeterli sayıda dolaşan kök kücre toplanması güçtür ve bu grup çocukta etkinliği iyi tanımlanmamıştır. Süt çocuğu AML'sinde ve FAB M0, M6 veya M7 AML'li çocuklarda kemoterapi veya otolog KHT ile şifa şansı çok düşüktür, bu nedenle akraba dışı (unrelated) KHT için indikasyon vardır. Haploidentik KHT yapılan çocuklarda NK alloreaktivitesi etkisi gösterilmiştir; bu da haploidentik KHT'nin de erken faz, çok yüksek riskli AML'li hastalarda kullanılabilirliğini düşündürmektedir. Relaps AML'de ise nakil endikasyonu mutlak olmakla birlikte nakil şekli halen tartışmalıdır (19,70).

Miyelodisplastik Sendrom (MDS)

Bu prelösemik hastalıkta pluripotent kök hücrenin bozulduğu söz konusudur. Bu nedenle küratif tedavi için nakil mutlaka gereklidir. MDS hastalarında nakilde tartışmalı noktalar hipoplastik MDS'in aplastik anemiden, ilerlemiş MDS formlarının(RAEB-t) AML'den ayırımındaki zorluktan kaynaklanmaktadır. Ayrıca hazırlık rejiminde radyoterapinin gerekliliği de halen tartışma konusudur. Üzerinde anlaşılabilen başka bir nokta ise MDS'li hastalarda nakil öncesi kemoterapi uygulamasının gerekliliğidir. MDS'de transplantasyon başarısı %40-70 'dir, MDS alt tipi, sitogenetik aberasyonlar, hazırlama rejiminin şekli ve transplantatın işleminden geçirilmesi gibi faktörler nakil başarısını etkilemektedir (71).

Kronik Miyeloid Lösemi (KML)

KML'de pluripotent kök hücrenin hastalığı olduğu için nakil indikasyonu bulunmaktadır. Hidroksiüre, interferon alfa, tirosinkinaz inhibitörleri ile uzun dönem sitogenetik remisyon hakkında çocukluk çağında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Eğer nakil kararı alınırsa naklin ilk kronik fazda yapılmasına çalışılmalıdır, akselere veya blastik fazda yapılan nakillerde başarı oranı belirgin şekilde düşmektedir. HLA grubu uygun aileiçi veya dışı nakillerde başarı oranı %60'dır (72).

Lenfomalar

Lenfoma'lı çocuklar, kemo- ve radyoterapiden oluşan ilk aşama tedavilerle tedavi edildiklerinde iyi bir prognoza sahiptirler. Bu yaklaşıma cevap vermeyen veya tekrarlayan hastalığı olan hastalar, OKHN ile uzun süreli hastaliksız sağ kalıma ulaşabilirler. Allo KHN'nin lenfomalı çocuklar-

daki gerçek etkisi bilinmemektedir (19).

Bu girişimin yapıldığı hastaların ileri hastalık durumlarına da bağlı olarak, allo KHN'nin transplanta bağlı yüksek toksisite taşıması, potansiyel bir graft-versus-lenfoma etkisinin uygun şekilde değerlendirilmesini şimdilik mümkün kılamamıştır. Sadece T hücreli NHL'larda tedavi stratejisi T-ALL'ye benzemekte ve allogeneik nakiller gündeme gelebilmektedir OKHN veya Allo KHN ile NHL'larda genel sağkalım %45, HL'larda %25 civarındadır (73).

Solid Tümörler

Bu alandaki geniş araştırmalara karşın, hiçbir çocukluk çağı solid tümörü, OKHN için standart bir indikasyon kabul edilemez.

Tek farklılık, prospektif, randomize çalışmalarla net avantajı gösterilmiş nöroblastom (1 yaşın üstünde, evre 4 veya düşük evrede yüksek risk faktörleri olan) ve yüksek-risk Ewing sarkomu olabilir. OKHN kabul edilmiş protokoller çerçevesinde yapılmalıdır (19).

Solid tümürlü çocuklar, yüksek doz kemoterapi + OKHT'den aşağıdaki durumlarda yarar görebilirler :

- **Germ hücreli tümörler:** relaps sonrası veya progresif hastalıkta
- **Yumuşak doku sarkomu:** evre IV veya rezeksiyonu yapılamayan relaps sonrası
- **Wilm's tümörü:** yüksek risk histoloji veya relaps
- **Osteojenik sarkom:** KHT'nin değeri henüz net değildir
- **Beyin tümörleri:** kemoterapiye cevaplı medulloblastoma ve yüksek gradlı gliomalı çocuklar

Genelde, solid tümürlü çocuklarda Allo KHT önerilemez, ancak klinik protokoller çerçevesinde ve özelleşmiş merkezlerde Allo KHN yapılabilir. Ancak tüm çabalara rağmen özellikle relaps solid tümör olgularında naklin başarıları çok düşük oradadır. (74,75).

Aplastik Anemi

Ağır aplastik anemi mutlak nakil endikasyonu taşımaktadır. Doku grubu uygun kardeşten yapılan nakillerde başarı şansı %80'leri bulmaktayken doku grubu uygunsuz aile içi veya dışı nakillerde başarı oranı belirgin olarak düşmektedir, bu grup hastada immunsupresyon ile tedavinin önemi daha da artmaktadır (76). Ağır aplastik anemili hastalarda sağkalım %90'ı geçmektedir (47, 77).

Konstitusyonel Aplazi Sendromları

Özellikle Fanconi anemili hastaların alkileyici ajanlara ve ışınlarla karşı olan aşırı duyarlılığı yıllar boyunca bu grup hastada başarılı hazırlama rejimleri geliştirilmesini engelledi. Doz azaltılarak kardeşten yapılan nakillerde başarı oranı %80'lere kadar yükselmiştir. Aile dışı donörlerden de nakiller son yıllarda başarı ile uygulanmaya başlamıştır (78).

Hemoglobinopatiler

Türkiye'de de 1988-2005 yılları arasında toplam 151 hasta-ya nakil yapılmıştır ve hastaliksız sağkalım %74 civarındadır.

KAYNAKÇA

1. Lorenz E, Uphoff D, Reid TR et al. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J Natl Cancer Inst*; 12(1): 197-201, 1951
2. Thomas EDA history of haematopoietic cell transplantation. *Br J Hematol*. 105; 330-339, 1999
3. S Anak. Kemik İliği Transplantasyonu, Endikasyonlar ve Sorunlar, *Medikal Dergi*; 103 : 44 - 47, 1994
4. JO Armitage. Bone Marrow Transplantation. *N Engl J Med*;330 (12) : 827 - 838, 1994
5. Donnall E.T. Landmarks in the development of hematopoietic cell transplantation. *World J Surg*; 24: 815-818, 2000
6. Abrams RA, McCormack K, Bowles C et al. Cyclophosphamide treatment expands the circulating hematopoietic cell pool in dogs. *J Clin Invest* ; 67:1392-1399,1981
7. Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A, et al. G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. *Nat Immunol*;3:687-694, 2002
8. Heissig B, Hattori K, Dias S, et al. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell* ; 109:625-637, 2002
9. Bensinger WI, Martin PJ, Storer B et al. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral blood cells from HLA identical relatives in patients with hematologic cancers. *N Engl J Med*; 344: 175-181, 2001
10. Ringden O, Remberger M, Runde V et al. Peripheral blood stem cell transplantation from unrelated donors: a comparison with marrow transplantation. *Blood* 94; 455-464, 1999
11. Champlin RE, Schmitz N, Horowitz M et al. Blood stem cells versus bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. *Blood* 95; 3702-9, 2000
12. Anderson D, Defor T, Burns L et al. A comparison of related donor peripheral blood and bone marrow transplants: importance of late onset chronic graft-versus-host disease and infections. *Biol Blood Marrow transplant*; 9: 52-9, 2003
13. Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/ progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 86; 3828-32, 1989
14. Gluckman E, Broxmeyer HE, Auerbach AD et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from an HLA identical sibling. *N engl J Med*; 321: 174-8, 1989
15. Gluckmann E. Hematopoietic stem-cell transplants using umbilical cord. *N Engl J Med* 344,1860-61, 2001
16. Rocha V, Cornish J, Sievers EL et al. Comparison of outcome of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia. *Blood* 97; 2962-71, 2001
17. Ballen KK. New trends in umbilical cord blood transplantation. *Blood*; 105 (10): 3786-3792, 2005
18. Brunstein CG, Baker KS, Wagner JE. Umbilical cord blood transplantation for myeloid malignancies. *Curr Opin Hematol*;14(2):162-169, 2007
19. Ljungman P, Urbano-Ispizua A, Cavazzana-Calvo M et al. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe. *Bone Marrow Transplant*; 37:439-449, 2006
20. Gratwohl A, Baldomero H, Passweg J et al. Hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies in Europe. *Leukemia* 176; 941-959, 2003
21. Peters C, Schrauder A, Schrappe M et al. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in children with acute lymphoblastic leukaemia: the BFM/IBFM/EBMT concepts. *Bone Marrow Transplantation*;35;9-11, 2005
22. Chute JP .Stem cell Homing *Curr Opin Hematol*;13(6):399-406, 2006
23. Storb R, Rudolph RH, Thomas ED. Marrow grafts between canine siblings matched by serotyping and mixed leukocyte culture. *J Clin Invest*; 50: 1272-75, 1971
24. Van Rood JJ, Van Leeuwen A. Leukocyte grouping. A method and its application. *J Clin Invest*; 42: 1382-1390, 1963
25. Ottinger HD, Müller CR, Goldmann SF et al. Second German consensus on immunogenetic donor search for allotransplantation of hematopoietic stem cells. *Ann Hematol* 80;706-714, 2001
26. Hurley CK, Baxter Lowe LA, Logan B et al. National marrow donor program HLA matching guidelines for unrelated marrow transplants. *Biol Blood Marrow Transplant*; 9: 610-615, 2003
27. Stewart FM, Crittenden RB, Lowry PA, et al. Long-term engraftment of normal and post-5-fluorouracil murine marrow into normal nonmyeloablated mice. *Blood* ; 81:2566-2571, 1993
28. Antoine C, Muller S, Cant A, et al. Long-term survival and transplantation of haemopoietic stem cells for immunodeficiencies: Report of the European experience 1968-1999. *Lancet*;361:553-560, 2003
29. Buckley R, Schiff S, Schiff RI, et al. Hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med*;340:508- 16, 1999

30. Sanders JE: Growth and development after hematopoietic cell transplantation. In: Thomas ED, Blume KG, Forman SJ, ed. *Hematopoietic Cell Transplantation*, 2nd ed. Malden, MA: Blackwell Science; 764-775, 1999
31. Slattery JT, Clift RA, Buckner CD, et al. Marrow transplantation for chronic myeloid leukemia: The influence of plasma busulfan levels on the outcome of transplantation. *Blood* ; 89:3055-3060, 1997
32. Deeg HJ, Storer B, Slattery JT, et al. Conditioning with targeted busulfan and cyclophosphamide for hemopoietic stem cell transplantation from related and unrelated donors in patients with myelodysplastic syndrome. *Blood*; 100:1201-1207, 2002
33. Hassan Z, Ljungman P, Ringden O, et al. Pharmacokinetics of liposomal busulphan in man. *Bone Marrow Transplant* ; 27:479-485, 2001
34. Russell JA, Tran HT, Quinlan D, et al. Once-daily intravenous busulfan given with fludarabine as conditioning for allogeneic stem cell transplantation: Study of pharmacokinetics and early clinical outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant*; 8:468-476, 2002
35. Sandmaier BM, Bethge WA, Wilbur DS, et al. Bismuth 213-labeled anti-CD45 radioimmunoconjugate to condition dogs for nonmyeloablative allogeneic marrow grafts. *Blood* ; 100:318-326, 2002
36. Klein AK, Patel DD, Gooding ME et al. T cell recovery in adults and children following umbilical cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*; 7: 454-466, 2001
37. Bader P, Stoll K, Huber S et al. Characterization of lineage specific chimerism in patients with acute leukemia and myelodysplastic syndrome after allogeneic stem cell transplantation before and after relapse. *Br J Hematol*;108:761-68, 2000
38. Antin JH, Childs R, Filipovich AH et al. Establishment of complete and mixed chimerism after allogeneic lymphohematopoietic transplantation: recommendations from a workshop at the 2001 tandem meetings. *Biol Blood Marrow Transplant*; 7: 473-85, 2001
39. Huss R, Deeg HJ, Gooley T, Bryant E, Leisenring W, Clift R, et al. Effect of mixed chimerism on graft-versus-host disease, disease recurrence and survival after HLA-identical marrow transplantation for aplastic anemia or chronic myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant*;18:767- 76, 1996
40. Socie G, Cayeula JM, Raynal B, et al. Influence of CD34 cell selection on the incidence of mixed chimerism and minimal residual disease after allogeneic unrelated donor transplantation. *Leukemia*;12:1440-6, 1998
41. Andreani M, Nesci S, Lucarelli G, et al. Long-term survival of ex-thalassemic patients with persistent mixed chimerism after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*;25:401-4, 2000
42. Bader P, Beck J, Frey A, et al. Serial and quantitative analysis of mixed hematopoietic chimerism by PCR in patients with acute leukemias allows the prediction of relapse after allogeneic BMT. *Bone Marrow Transplant*;21:487-95, 1998
43. Serrano J, Roman J, Herrera C, et al. Increasing mixed haematopoietic chimerism after BMT with total depletion of CD4+ and depletion of CD8+ lymphocytes is associated with a higher incidence of relapse. *Bone Marrow Transplant*;23:475-82, 1999
44. Van der Straaten HM, Fijnheer R, Dekker AW, et al. Relationship between graft-versus-host disease and graft-versus-leukaemia in partial T cell-depleted bone marrow transplantation. *Br J Haematol*;114:31- 5, 2001
45. Amrolia P, Gaspar H, Hassan A, et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation for congenital immunodeficiencies. *Blood*;96:1239-46, 2000
46. Boiron J-M, Cotteret S, Cony-Makhoul P, et al. Stable mixed chimerism without relapse after related allogeneic umbilical cord blood transplantation in a child with severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant*;22:819-21,1998
47. Walters MC, Patience M, Leisenring W, et al. Bone marrow transplantation for sickle cell disease. *N Engl J Med*;335:369- 428, 1996.
48. Kanz L, Brugger W. Mobilization and ex vivo manipulation of peripheral blood progenitor cells for support of high-dose cancer therapy. In: Thomas ED, Blume KG, Forman SJ, ed. *Hematopoietic Cell Transplantation*, 2nd ed. Boston: Blackwell Science; 455-468, 1999
49. Bensinger WI, Storb R. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Rev Clin Exp Hematol* ; 5:67-86, 2001
50. Mitus AJ, Antin JH, Rutherford CJ, et al. Use of recombinant human erythropoietin in allogeneic bone marrow transplant donor/recipient pairs. *Blood*; 83:1952-1957, 1994
51. Beelen DW, Elmaagacli A, Muller KD, et al. 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* ; 93:3267-3275, 1999
52. Matthes -Martin S, Aberle SW, Peters C et al. CMV- viremia during allogeneic bone marrow transplantation in pediatric patients: association with survival and graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant*;21 (Suppl 2): 53-56, 1998
53. Holler E, Wodzinski A, Kolb HJ et al. Adenovirus and other respiratory virus infections in patients undergoing autologous or allogeneic stem cell transplantation. Final analysis of a prospective multicentre surveillance study. *Onkologie* 25:130, 2002

54. Chakrabarti S, Mautner V, Osman H et al. Adenovirus infections following allogeneic stem cell transplantation: incidence and outcome in relation to graft manipulation, immunosuppression and immune recovery. *Blood* 100; 1619-1627, 2002
55. Reusser P, Einsele H, Lee J et al. Randomised multicenter trial of foscarnet versus ganciclovir for preemptive therapy of cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 99: 1159-1164, 2002
56. Rappeport JM, Mihm M, Reinherz EL, et al. Acute graft-vs.-host disease in recipients of bone marrow transplants from identical twin donors. *Lancet* ; 2:717-720,1979
57. Hess AD, Thoburn CJ, Chen W, Horwitz LR. Complexity of effector mechanisms in cyclosporine-induced syngeneic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* ; 6:13-24, 2000
58. Kernan NA: T-cell depletion for the prevention of graft-versus-host disease. In: Thomas ED, Blume KG, Forman SJ, ed. *Hematopoietic Cell Transplantation*, 2nd ed. Boston: Blackwell Science; 186-196,1999
59. Hale G, Jacobs P, Wood L, et al. CD52 antibodies for prevention of graft-versus-host disease and graft rejection following transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells. *Bone Marrow Transplant*; 26:69-76, 2000).
60. Arora M, Burns LJ, Davies SM et al. Chronic graft-versus-host disease: a prospective cohort study. *Biol Blood Marrow Transplant*; 9: 38-45, 2003
61. In: Ferrara JLM, Deeg HJ, Burakoff SJ, ed. *Graft-vs.-Host Disease*, 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 1997
62. Benesch M, Deeg HJ: Acute graft-versus-host disease. In: Atkinson MK, Fibbe WE, Champlin R, et al ed. *Clinical Bone Marrow and Blood Stem Cell Transplantation: A Reference Book*, 3rd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2004
63. Petersdorf EW, Mickelson EM, Anasetti C, et al. Effect of HLA mismatches on hematopoietic transplant outcomes. *Curr Opin Immunol* ; 11:521-526,1999
64. Fischer A, Friedrich W, Fasth A, et al. Reduction of graft failure by a monoclonal antibody (anti-LFA-1 CD11a) after HLA nonidentical bone marrow transplantation in children with immunodeficiencies, osteopetrosis, and Fanconi's anemia: A European Group for Immunodeficiency/European Group for Bone Marrow Transplantation Report. *Blood* ; 77:249-256, 1991
65. ausen BF, Heilmann C, Vindelov L, Jacobsen N. Outcome of acute lymphoblastic leukemia in Danish children after allogeneic bone marrow transplantation. Superior survival following transplantation with matched unrelated donor grafts. *Bone Marrow Transplant* 22;325-330, 1998
66. Schrappe M, Reiter A, Zimmermann A et al. Long term results of four consecutive trials in childhood ALL performed by the ALL-BFM study group from 1981-1995. *Leukemia* 14;2205-2222,2000
67. Borgmann A, Von Stackelberg A, Hartmann R et al. Unrelated donor stem cell transplantation compared with chemotherapy for children with acute lymphoblastic leukemia in a second remission: a matched -pair analysis. *Blood*; 101:3835-3839, 2003.
68. Bunin N, Carston M, Wall D et al. Unrelated marrow transplantation for children with acute lymphoblastic leukemia in second remission. *Blood*; 99:3151-3157, 2002
69. Anak S, Tugrul Saribeyoglu E, Bilgen H et al. Allogeneic versus autologous versus peripheral stem cell transplantation in CR1 pediatric AML patients: A single center experience. *Pediatr Blood Cancer*;44: 654-659,2005
70. Creutzig U, Reinhardt D, Zimmermann M et al. Intensive chemotherapy versus bone marrow transplantation in pediatric acute myeloid leukemia. A matter of controversies. *Blood* 97:3671-2, 2001)
71. Hasle H. Myelodysplastic and myeloproliferative diseases in children. *Curr Opin Pediatr*;19(1):1-8, 2007
72. Goldman JM, Melo JV 2003. Chronic myeloid leukemia- advances in biology and new approaches to treatment. *N Engl J Med* 349: 1451-64, Millot F, Esperou H, Bordigoni P et al. Allogeneic bone marrow transplantation for chronic myeloid leukemia in childhood: a report from the Societe Francaise de Greffe de Moelle et de Therapie Cellulaire (SFGM-TC). *Bone Marrow Transplant* 32: 993-99,2003
73. Woessmann W, Peters C, Lenhard M, et al. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in relapsed or refractory anaplastic large cell lymphoma of children and adolescents--a Berlin-Frankfurt-Munster group report *Br J Haematol*;133(2):176-82, 2006.
74. Koscielniak E, Harms D, Henzet al. Results of treatment for soft tissue sarcoma in childhood and adolescence: a final report of the German Cooperative Soft Tissue Sarcoma Study CWS-86. *J Clin Oncol*; 17: 3706-3719, 1999
75. Ceschel S, Casotto V, Valsecchi MG, et al. Survival after relapse in children with solid tumors: a follow-up study from the Italian off-therapy registry *Pediatr Blood Cancer*;47(5):560-6, 2006
76. Bacigalupo A, Brand R, Oneto R et al. Treatment of acquired severe aplastic anemia: bone marrow transplantation compared with immunosuppressive therapy-The European Group for Blood and Marrow Transplantation experience. *Semin Hematol*; 37: 69; 2000.
77. Vermynen C, Cornu G, Ferster A, et al. Haematopoietic stem cell transplantation for sickle cell anemia: the first 50 patients transplanted in Belgium. *Bone Marrow Transplant*;22: 1-6, 1998
78. McMillan ML, Auerbach AD, Davies SM et al. Hematopoietic cell transplantation in patients with Fanconi anemia using alternate donors: results of a total body irradiation dose escalation study. *Br J Haematol* 109: 121-129, 2000