

Talasemi Majör Hastalarında Kök Hücre Transplantasyonu Sonrası İmmün Yeniden Yapılanmanın Değerlendirilmesi

Immune Reconstitution in the Patients with Talasemia Major after Hematopoietic Stem Cell Transplantation

Baran ERMAN^{1,2,3}, Başak ADAKLI AKSOY⁴

Öz

Giriş: Beta-talasemi (β-TM) otozomal resesif kalıtım gösteren, dünyada en yaygın hematolojik hastalıklardan biridir. Hematopoietik kök hücre transplantasyonu (HKHT) tek tedavi edici yöntem olduğundan transplantasyon sonrası hücresel immün yeniden yapılanmanın belirlenmesi başarılı klinik sonuçların anlaşılması için kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada kök hücre transplantasyonu yapılan pediatrik yaş grubu talasemi major hastalarında lenfoid seri hücrelerin yeniden yapılanması değerlendirilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler: Kök hücre transplantasyonu yapılan 20 beta talasemili hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların klinik ve laboratuvar bilgileri geçmişe yönelik değerlendirilmiştir.

Bulgular: Transplantasyondan bir sene sonra, tüm hastalar sağ ve kan transfüzyonuna gerek duymayan bir durumdadır. Hastaların büyük çoğunluğunda CD4⁺ T hücre yapılanması düşüktür ve CD4⁺/CD8⁺ hücre oranları bozulmuştur. Diğer lenfoid seri hücrelerinin yüzde ve sayıları 12 ay içinde genel olarak normal değerlere ulaştı. On yedi hastada tam donör kimerizmi görülürken yalnızca 3 hastada karışık donör kimerizmi saptandı ve yüzdeleri %55–86 arasında değişmekte idi.

Sonuç: Başarılı klinik sonuçlar ve immün yeniden yapılanmaya rağmen hastaların dikkatli takip edilmesi gerekmektedir. Çünkü CD4⁺ T hücrelerin yapılanmasının düşük olması hastalarda ciddi enfeksiyon riski yaratabilir.

Anahtar Kelimeler: beta-talasemi, kök hücre transplantasyonu, immün yeniden yapılanma

Abstract

Introduction: Beta-thalassemia (β-TM) is one of the most common, autosomal recessive inherited hematologic disorder in the world. Since hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is the only curative treatment, determination of cellular immune reconstitution is crucial for understanding of a successful clinical outcome. Here, we evaluated lymphoid reconstitution in pediatric patients with thalassemia major after stem cell transplantation.

Material and Methods: The study included 20 patients with beta-thalassemia major who underwent HSCT. We assessed the clinical and laboratory information of the patients retrospectively.

Results: After one year from transplantation, all patients were alive and blood transfusion independent. CD4⁺ T cell recovery was poor and CD4/CD8 ratio was impaired in the vast majority of the patients. Percentages and absolute counts of the other lymphoid cells generally reached the normal levels within 12 months. Seventeen patients had full donor chimerism while only 3 of 20 had low chimerism levels ranging between 55–86%.

Conclusion: Although a successful clinical course and immune reconstitution were observed, the patients should be followed up carefully. Because, the poor engraftment of CD4⁺ T lymphocytes may lead severe infections in the patients.

Keywords: beta-thalassemia, stem cell transplantation, immune reconstitution

¹ Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

² Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

³ Can Sucak Translasyonel İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

⁴ Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Altınbaş Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye

Correspondence:

Baran ERMAN
Hacettepe Çocuk Hastanesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, 06230, Sıhhiye, Ankara, Türkiye

E-mail: baranerman@gmail.com

Received: Apr 09, 2020

Accepted: Dec 07, 2020

<https://doi.org/10.25002/tji.2020.1238>

©2020 Turkish Journal of Immunology

Available online at
<http://www.turkishimmunology.org>

Giriş

Beta-talasemi (β-TM) hemoglobinin beta globin zincir sentezindeki bozuklukla ortaya çıkan, anemi ve ilişkili klinik bulgularla karakterize genetik bir hastalıktır.^[1] Hastalığın prevalansı oldukça yüksek olup, dünya nüfusunun yaklaşık %1,5'una denk gelen 80–90 milyon taşıyıcı birey olduğu rapor edilmiştir.^[2] Beta-talasemiler ülkemizin de içinde bulunduğu Akdeniz bölge ülkelerinde oldukça sık görülmektedir. Beta-talasemi taşıyıcılığı ülkemizde %2 olmakla birlikte, bu oran bazı bölgelerde %10'a kadar çıkmaktadır.^[3]

Beta-talasemi majör (akdeniz anemisi), beta-talasemi intermedia ve beta-talasemi minor (beta talasemi taşıyıcılığı) olmak üzere hastalığın üç ana formu bulunmaktadır.

Beta-talasemi majör hastalığın en ağır formudur. Anemi ile birlikte gelişme geriliği, sarılık, bacak ülserleri, çeşitli iskelet kusurları ve hepatosplenomegali gibi klinik bulgular genellikle altıncı aydan itibaren yaşamın ilk iki yılında ortaya çıkmaktadır.^[4] Hastalar yaşam boyu, sık aralıklarla kan transfüzyonuna ihtiyaç duyarlar.^[4] Hematopoietik kök hücre transplantasyonu (HKHT) tek küratif tedavi yöntemidir. HKHT ile hastaların prognozunda belirgin düzelme gözlenmekle birlikte transplantasyon sonrası gelişebilen *graft-versus-host* hastalığı (GVHH), enfeksiyonlar ve doku reddi gibi komplikasyonlar potansiyel riskleri oluşturmaktadır.^[5] Transplantasyon sonrası gelişen komplikasyonlar genelde immün sistemin yeniden yapılanması (immün rekonstitüsyon) ile ilgilidir.^[6] Bu nedenle hastalarda transplantasyon sonrası immün yeniden yapılanmanın belirlenmesi, tedavinin etkinliğinin geliştirilmesi açısından oldukça önemlidir.^[6] Literatürde beta-talasemili pediatrik hasta grubunda immün yeniden yapılanma ile ilgili yapılmış yalnızca bir kaç araştırma mevcuttur.^[6,7]

Bu çalışmada hematopoietik kök hücre transplantasyonu yapılan, klinik olarak iyi durumda olan, ilaçları kesilmiş pediatrik beta-talasemi hasta grubunda nakil sonrası 1. yıldaki immün yeniden yapılanma bulguları araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Hastalar

Çalışmaya Ocak 2015-Aralık 2018 tarihleri arasında İstanbul Bahçelievler Medicalpark Hastanesi, Pediatrik Kök Hücre Transplantasyon Merkezi'nde HKHT yapılan 20 beta-talasemi hastası dahil edilmiştir. Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri kök hücre transplantasyonunun üzerinden en az 1 yıl geçmesi, profilaktik olarak aldıkları bağışıklık baskılayıcı tedavilerinin en az 3 ay önce kesilmesi ve nakil sürecinde önemli bir komplikasyon (aktif enfeksiyon) yaşamamalarıdır. Çalışmada yer alan bulgular (lenfosit yüzde ve sayıları, immünoglobulin değerleri ve kimerizm sonuçları) hasta kayıtlarının geçmişe yönelik incelenmesi sonucu elde edilmiştir. Çalışma Helsinki Bildirgesi etik standartlarına uygun olarak hazırlanmış, hasta ve ebeveynlerden bilgilendirilmiş

onam formları alınmıştır. Çalışma Altınbaş Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 18,09,2020 tarihli, 2020/17 numaralı raporu ile onaylanmıştır.

Kök Hücre Transplantasyonu

Hastalara uygulanan hematopoietik kök hücre transplantasyonu akraba ya da akraba dışı tam uyumlu (10/10, HLA, *Human leucocyte antigen* uyumlu) donörlerden yapılmıştır. Transplantasyon için gerekli CD34⁺ kök hücre (en az 5×10⁶/kg) 10 kardeş (6 kemik iliği, 4 periferik kan), 4 kardeş dışı akraba (2 kemik iliği, 2 periferik kan) ve 6 akraba dışı (6 periferik kan) donörden elde edilmiştir. Transplantasyon öncesi hastalara busulfan/treosulfan (3,2 mg/kg-14 g/m², 3 gün), siklofosamid (60 mg/kg, 2 gün), tiotepa (10 mg/kg, 1 gün) ve fludarabine (30 mg/m², 5 gün) ile myeloablatif hazırlık rejimi verilmiştir. *Graft-versus-host* hastalığı profilaksisi için tüm hastalara siklosporin A (3 mg/kg/g) ve akraba dışı vericilerden yapılan nakillerde metotreksat (10 mg/m²) uygulanmıştır. Anti-timosit globulin (ATG) ise nakil öncesi hazırlık rejimi ile birlikte 4 gün 15 mg/kg/gün dozunda tüm hastalarda kullanılmıştır.

İstatistiksel Yöntemler

Verilerin dağılımlarının normalliği Shapiro-Wilk testi ile belirlenmiştir. Hücre yüzdelerinin donör tipi, kök hücre kaynağı ve kimerizm yüzdeleri ile ilişkisi parametrik olmayan yöntemlerden Kruskal-Wallis testi kullanılarak analiz edilmiştir. Bu yöntemler ile birlikte ortanca hesapları SPSS 25.0 (IBM, ABD) programı ile yapılmıştır. p<0,05 değeri anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular

Hasta Popülasyonu

Hastaların hepsi halen sağ ve klinik olarak iyi durumda olup, hiçbir hasta transfüzyon bağımlı değil idi. Hastaların yaşları 25-220 ay (ortanca: 66 ay) arasında değişmekte idi. Transplantasyon uygulanan yaş ise 13-208 ay (ortanca: 55,5) arasındadır. Hastaların 12'si kız, 8'i erkekti (Tablo 1).

Transplantasyon sonrası yalnızca bir hastada birinci derece GVHH bulguları saptanmış, aynı hastaya daha sonra graft kaybı nedeniyle ikinci bir kök hücre transplantasyonu yapılması gerekti (2 numaralı hasta). Takip sürecinde 2 hastada akut cilt ve karaciğer GVHH düşünülmüştür, ancak doku biyopsileri GVHH'yi desteklememektedir.

Tablo 1. Hastaların karakteristik özellikleri

Hasta no	Cinsiyet	Yaş (ay)	Transplantasyon yaşı (ay)	Donör	Kök hücre kaynağı	Sağkalım durumu
1	K	28	55	Akraba	Kemik iliği	Sağ
2	E	173	159	Akraba	Kemik iliği	Sağ
3	K	45	33	Akraba dışı	Periferik kan	Sağ
4	E	193	180	Kardeş	Kemik iliği	Sağ
5	K	25	13	Kardeş	Kemik iliği	Sağ
6	E	72	56	Akraba dışı	Periferik kan	Sağ
7	E	28	15	Akraba dışı	Periferik kan	Sağ
8	K	84	72	Kardeş	Periferik kan	Sağ
9	E	47	35	Kardeş	Kemik iliği	Sağ
10	K	133	120	Akraba	Periferik kan	Sağ
11	K	27	15	Akraba dışı	Periferik kan	Sağ
12	E	79	67	Kardeş	Kemik iliği	Sağ
13	K	36	24	Kardeş	Kemik iliği	Sağ
14	K	127	115	Kardeş	Kemik iliği	Sağ
15	E	168	154	Akraba dışı	Periferik kan	Sağ
16	K	60	47	Kardeş	Periferik kan	Sağ
17	K	25	13	Kardeş	Periferik kan	Sağ
18	K	220	208	Kardeş	Periferik kan	Sağ
19	K	216	173	Akraba	Periferik kan	Sağ
20	E	40	28	Akraba dışı	Periferik kan	Sağ

Kısa süreli kortikosteroid kullanımı ile klinik bulguları düzeldi.

Hastaların klinik takip süreleri 12–47 ay (ortanca: 24 ay) arasında değişmekte idi.

Bağışıklığın Yeniden Yapılanması

Transplantasyon sonrası 1. yılda immünoglobulin değerleri tüm hastalarda yaşa göre normal olup, intravenöz immünoglobulin (IVIG) tedavisi gereksinimi olmamıştır (Tablo 2).^[8]

Tablo 2. Hastaların transplantasyon sonrası 1. yılda immünoglobülin düzeyleri ve T hücre kimerizm değerleri

Hasta no	IgA* mg/dl	IgG* mg/dl	IgM* mg/dl	T hücre kimerizm (%)
1	52 (26–296)	677 (604–1941)	80 (71–235)	86 (karışık)
2	99 (96–435)	1117 (907–1958)	90 (83–282)	99 (tam)
3	145 (44–244)	1256 (640–2010)	306 (52–297)	99 (tam)
4	124 (100–447)	888 (876–2197)	101 (75–448)	55 (karışık)
5	106 (30–107)	776 (605–1430)	68 (66–228)	71 (karışık)
6	69 (57–282)	804 (745–1804)	89 (78–261)	99 (tam)
7	46 (26–296)	704 (604–1941)	73 (71–235)	98 (tam)
8	-	856 (764–2134)	-	99 (tam)
9	96 (44–244)	835 (640–2010)	85 (52–297)	99 (tam)
10	145 (62–390)	1267 (842–1943)	62 (54–392)	95 (tam)
11	95 (26–296)	1076 (604–1941)	80 (71–235)	96 (tam)
12	108 (70–303)	777 (764–2134)	69 (59–387)	98 (tam)
13	84 (26–296)	795 (604–1941)	139 (71–235)	99 (tam)
14	95 (62–390)	1447 (842–1943)	84 (54–392)	99 (tam)
15	124 (96–465)	1217 (907–1958)	101 (83–282)	99 (tam)
16	68 (57–282)	901 (745–1804)	95 (78–261)	99 (tam)
17	59 (30–107)	1150 (605–1430)	86 (66–228)	99 (tam)
18	151 (139–378)	1732 (913–1884)	96 (88–322)	99 (tam)
19	165 (139–378)	995 (913–1884)	89 (88–322)	96 (tam)
20	63 (44–244)	689 (640–2010)	65 (52–297)	99 (tam)

Parantez içindeki değerler yaşa göre normalleri göstermektedir.

* Tezcan I, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 1996.^[8]

Tablo 3. Hastaların transplantasyon sonrası 1. yılda immün yeniden yapılanma değerleri

Hasta no	ALS		CD3 ⁺ hücreler*		CD4 ⁺ hücreler*		CD8 ⁺ hücreler*		CD4/CD8	CD19 ⁺ hücreler*		CD16 ⁺ /56 ⁺ hücreler*	
	Sayı x10 ⁹ /L	%	Sayı x10 ⁹ /L	%	Sayı x10 ⁹ /L	%	Sayı x10 ⁹ /L	%		%	Sayı x10 ⁹ /L	%	Sayı x10 ⁹ /L
1	4,8 (1,5-5,2)	66 (55-79)	3,2 (1,9-3,6)	16 (26-49)	0,8 (0,6-2)	48 (9-35)	2,3 (0,3-1,3)	0,3	18 (11-31)	0,9 (0,3-1,2)	12 (5-28)	0,6 (0,2-1,2)	
2	1,3 (1,7-5,7)	66 (58-82)	0,9 (1,1-4,1)	16 (26-48)	0,2 (0,6-2,4)	46 (16-32)	0,5 (0,4-1,5)	0,3	18 (10-30)	0,2 (0,2-1,4)	12 (8-30)	0,2 (0,2-1)	
3	2,7 (1,5-5,2)	70 (55-79)	1,9 (1,9-3,6)	17 (26-49)	0,5 (0,6-2)	52 (9-35)	1,4 (0,3-1,3)	0,3	27 (11-31)	0,7 (0,3-1,2)	4 (5-28)	0,1 (0,2-1,2)	
4	2,4 (1,7-5,7)	73 (58-82)	1,7 (1,1-4,1)	13 (26-48)	0,3 (0,6-2,4)	45 (16-32)	1,1 (0,4-1,5)	0,3	16 (10-30)	0,4 (0,2-1,4)	3 (8-30)	0,07 (0,2-1)	
5	3 (1,5-5,2)	53 (55-79)	1,6 (1,9-3,6)	18 (26-49)	0,5 (0,6-2)	32 (9-35)	1 (0,3-1,3)	0,6	31 (11-31)	1 (0,3-1,2)	6 (5-28)	0,2 (0,2-1,2)	
6	4,9 (1,5-7,6)	80 (57-81)	3,9 (1-4,9)	14 (24-47)	0,7 (0,5-2,7)	60 (17-37)	2,9 (0,3-2,1)	0,2	13 (10-27)	0,6 (0,2-2,2)	4 (8-28)	0,2 (0,2-0,9)	
7	1,6 (1,5-5,2)	71 (55-79)	1,1 (1,9-3,6)	17 (26-49)	0,3 (0,6-2)	51 (9-35)	0,8 (0,3-1,3)	0,3	15 (11-31)	0,3 (0,3-1,2)	13 (5-28)	0,2 (0,2-1,2)	
8	2,2 (1,7-5,7)	54 (57-81)	1,2 (1-4,9)	18 (24-47)	0,4 (0,5-2,7)	32 (17-37)	0,7 (0,3-2,1)	0,6	29 (10-27)	0,6 (0,2-2,2)	8 (8-28)	0,2 (0,2-0,9)	
9	4,3 (1,5-5,2)	62 (55-79)	2,7 (1,9-3,6)	8 (26-49)	0,4 (0,6-2,0)	46 (9-35)	2 (0,3-1,3)	0,2	17 (11-31)	0,7 (0,3-1,2)	16 (5-28)	0,7 (0,2-1,2)	
10	3,2 (1,7-5,7)	50 (58-82)	1,6 (1,1-4,1)	16 (26-48)	0,5 (0,6-2,4)	28 (16-32)	0,9 (0,4-1,5)	0,6	31 (10-30)	1 (0,2-1,4)	11 (8-30)	0,3 (0,2-1)	
11	2 (1,5-7,6)	75 (55-79)	1,5 (1,9-3,6)	22 (26-49)	0,4 (0,6-2)	52 (9-35)	1,1 (0,3-1,3)	0,4	18 (11-31)	0,4 (0,3-1,2)	8 (5-28)	0,2 (0,2-1,2)	
12	2,2 (1,5-7,6)	65 (57-81)	1,4 (1-4,9)	34 (24-47)	0,7 (0,5-2,7)	24 (17-37)	0,5 (0,3-2,1)	1,4	22 (10-27)	0,5 (0,2-2,2)	8 (8-28)	0,2 (0,2-0,9)	
13	2,2 (1,5-5,2)	71 (55-79)	1,5 (1,9-3,6)	26 (26-49)	0,5 (0,6-2,0)	35 (9-35)	0,7 (0,3-1,3)	0,7	15 (11-31)	0,3 (0,3-1,2)	8 (5-28)	0,2 (0,2-1,2)	
14	2,2 (1,7-5,7)	70 (58-82)	1,5 (1,1-4,1)	24 (26-48)	0,5 (0,6-2,4)	43 (16-32)	0,9 (0,4-1,5)	0,6	14 (10-30)	0,3 (0,2-1,4)	9 (8-30)	0,2 (0,2-1)	
15	2,1 (1,7-5,7)	62 (58-82)	1,3 (1,1-4,1)	13 (26-48)	0,3 (0,6-2,4)	50 (16-32)	1 (0,4-1,5)	0,3	23 (10-30)	0,5 (0,2-1,4)	8 (8-30)	0,2 (0,2-1)	
16	1,6 (1,5-7,6)	65 (57-81)	1,2 (1-4,9)	18 (24-47)	0,3 (0,5-2,7)	48 (17-37)	0,8 (0,3-2,1)	0,3	18 (10-27)	0,3 (0,2-2,2)	13 (8-28)	0,2 (0,2-0,9)	
17	2,9 (1,5-5,2)	75 (55-79)	2,2 (1,9-3,6)	14 (26-49)	0,4 (0,6-2)	42 (9-35)	1,2 (0,3-1,3)	0,3	15 (11-31)	0,4 (0,3-1,2)	9 (5-28)	0,3 (0,2-1,2)	
18	5,1 (1,7-5,7)	65 (58-82)	3,3 (1,1-4,1)	26 (26-48)	1,3 (0,6-2,4)	37 (16-32)	1,9 (0,4-1,5)	0,7	23 (10-30)	1,2 (0,2-1,4)	4 (8-30)	0,2 (0,2-1)	
19	1,3 (1,7-5,7)	70 (58-82)	0,9 (1,1-4,1)	14 (26-48)	0,2 (0,6-2,4)	54 (16-32)	0,7 (0,4-1,5)	0,3	11 (10-30)	0,1 (0,2-1,4)	12 (8-30)	0,2 (0,2-1)	
20	5,5 (1,5-5,2)	65 (55-79)	3,6 (1,9-3,6)	24 (26-49)	1,3 (0,6-2)	38 (9-35)	2,1 (0,3-1,3)	0,6	9 (11-31)	0,5 (0,3-1,2)	19 (5-28)	1 (0,2-1,2)	

ALS, Mutlak lenfosit sayısı.

Parantez içindeki rakamlar yaşa göre normal değerleri ifade etmektedir. Koyu yazılan rakamlar normal değerlerin dışındadır.

* İkinçioğulları A, Turk J Pediatr 2004.^[9]

Hastaların mutlak lenfosit sayıları 2 hastada görülen hafif düzeyde lenfopeni hariç hepsinde yaşa göre normal değerler içinde idi (1,3-5,5 10⁹/L, ortanca: 2,3 10⁹/L).

CD3⁺ T lenfosit yüzdeleri üç hastada hafif derecede düşük olup, 17 hastada normal değerler içinde bulundu (%50-80). CD3⁺ hücrelerin mutlak sayıları ise 0,9-3,9 10⁹/L (ortanca: 1,6 10⁹/L) arasında değişmekte idi. Beş hastada hafif düzeyde düşüklük saptanmış olup, 15 hastanın hücre sayıları normal değerler içinde olarak saptandı.

CD4⁺ T lenfositleri yüzdeleri 17 hastada normal değerlerin altında saptandı (%8-34). On beş hastada ise bu düşüklük CD4⁺ lenfosit sayılarına da yansdı (0,2-1,3 10⁹/L, ortanca: 0,5 10⁹/L). CD4⁺ T lenfositleri yüzdesi ve sayısındaki düşüklük istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde donör tipi [p=0,18 (hücre yüzdesi), p=0,96 (hücre sayısı)],

kök hücre kaynağı [p=0,31 (hücre yüzdesi), p=0,56 (hücre sayısı)] ve kimerizm yüzdeleri [p=0,7 (hücre yüzdesi), p=0,3 (hücre sayısı)] ile ilişkili değil idi.

CD8⁺ T lenfositleri yüzdeleri ise 15 hastada yüksek, 5 hastada normal olarak saptandı (%24-60). Bu hücrelerin mutlak sayıları ise 0,5-2,9 10⁹/L (ortanca: 1 10⁹/L) arasında değişmekte idi ve 6 hastada normal değerlerin üzerinde bulundu.

CD4⁺/CD8⁺ hücreleri oranı 1 hasta hariç diğerlerinde belirgin düşük olarak bulundu (0,2-1,4, ortanca: 0,3).

CD19⁺ B lenfositleri için yüzdeler 2 hastada artmış, diğerlerinde normal idi (%9-31). B lenfositleri mutlak sayıları yalnızca bir hastada hafif derecede düşük saptanmış

olup (0,1–1,2 $10^9/L$, ortanca: 0,5 $10^9/L$), diğer hastalarda normal değerler arasında idi.

CD16⁺/56⁺ doğal öldürücü hücre (*Natural killer, NK cell*) yüzdeleri 4 hastada normal değerlerin altında idi (%3–%19). Mutlak sayılar ise iki hastada normal değerlerin altında saptandı (0,07–1 $10^9/L$, ortanca: 0,2 $10^9/L$).

Hastalarda transplantasyon sonrası 1. yılda bakılan T hücre kimerizmleri %55–99 arasında değişmekte idi. Bu sonuçlara göre toplam hasta sayısının %85'i olan 17 hastada tam (%95–99), 3 hastada (%15) karışık (%55–86) donör kimerizmi görüldü. Hastalarda saptanan %95 ya da üzeri donör profili tam kimerizm olarak kabul edildi.

Hastaların hücre yüzde ve sayıları Tablo 3'te verilmiştir. Normal değerler yaşa göre belirlenen değerlerdir.

Tartışma

Hematopoietik kök hücre transplantasyonu kalıtsal bir hastalık olan beta-talasemi majör için tek küratif tedavi yöntemi olarak kabul edilmektedir.^[10] Literatürde pediatrik hasta grubunda transplantasyon sonuçlarının değerlendirildiği bir çok çalışma bulunmasına rağmen, bu çalışmaların hemen hepsinde primer olarak transplantasyon sonrası *graft-versus-host* hastalığı, erken dönem trombosit replasmanı, myeloid engraftmanı ve hayatta kalma oranları değerlendirilmektedir.^[11–25] Bu çalışmaların yalnızca birkaçında immün hücrelerin yeniden yapılanması değerlendirilmiştir.^[6,7,25] Çalışmamızda kök hücre transplantasyonu yapılan 20 hastada, transplantasyon sonrası 1. yılda lenfosit yeniden yapılanma bulguları değerlendirildi. Hastaların genel klinik durumları iyi olup, T, B ve doğal öldürücü hücre sayıları genel olarak normal değerlere ulaştı. Fakat özellikle CD4⁺ T hücre yüzde ve sayılarının düşük olduğu, dolayısıyla CD4⁺/CD8⁺ hücre oranının tersine dönmüş olduğu görüldü.

Beta-talasemi majör hastalarında hematopoietik kök hücre transplantasyonu hematolojik kanserlerden farklı özelliklere sahiptir. Bu hastalarda bir tümör klonunun ve *graft-versus-tümör* etkisinin yok edilmesi gerekmemektedir. Hastalar transplantasyon öncesinde kemoterapi almadıkları için immün sistemleri teorik olarak baskılı bulunmamaktadır.^[10] Yine de başarılı bir engraftman için hastalıklı kemik iliğinin transplantasyon öncesi uygun myeloablatif hazırlık rejimi ile yok edilmesi gerekmektedir. Çalışmamızdaki hastalarda kullanılan

myeloablatif hazırlık rejimleri özellikle son 10 yılda sıklıkla kullanılmakta ve başarılı sonuçlar elde edilmektedir.^[12,13,18–20] Bu çalışmalarda genel sağkalım oranları %79–95 arasında, hastaliksız sağkalım oranları ise %71–87 arasında değişmektedir.^[12,13,18–20] Bizim çalışmamızda immün yeniden yapılanma değerlendirilmiş ve bu nedenle 1. yılda halen iyi olan, komplikasyon yaşamayan hastalar dahil edilmiştir. Birinci yıldan sonraki takip durumları değerlendirildiğinde tüm hastaların (ortanca takip süresi 24 ay) halen hayatta ve iyi oldukları görülmüştür.

Hastalarda transplantasyon sonrası 1. yılda yapılan kimerizm analizlerinde toplam hasta sayısının %85'inde (17/20) tam donör kimerizmi olduğu görülmüştür. Choudhary ve ark.'nın yaptığı, 28 hastayı kapsayan bir çalışmada uzun dönem kimerizm oranları %71 (tam) ve %29 (karışık) olarak bulunmuştur.^[13] Malign olmayan hematolojik hastalıklarda transplantasyon sonrası karışık kimerizm, hedeflenen tedavi sağlanmış ise normal olarak kabul edilebilmektedir.^[26,27] Çalışmamızda hastaların sadece 3'ünde karışık kimerizm saptandı ancak bu hastalarda stabil karışık kimerizm olması nedeniyle transfüzyon ihtiyaçları yoktur. Ayrıca hastaların genel durumu iyi ve tam donör kimerizmi saptanan diğer hastalar ile benzerdir.

Hastaların mutlak lenfosit sayıları yalnızca iki hastadaki hafif düşüklük hariç transplantasyon sonrası 1. yılda normal düzeylere ulaşmıştır. CD3⁺ T lenfosit sayısı ve yüzdeleri ise sırasıyla 17 ve 15 hastada 12 ay sonrasında yaşa göre normal değerlere ulaştı. Değerleri düşük olan hastalarda lenfopeni yine hafif düzeyde bulundu. Mutlak lenfosit sayıları düşük olan 3 hastanın CD3⁺ T lenfosit sayıları da normal değerlerin altında idi. CD3⁺ T lenfosit sayılarıyla ilgili elde edilen bulgular daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olarak bulundu.^[6,7,25] Bu çalışmalarda da transplantasyon sonrası 1. yılda CD3⁺ T lenfosit sayıları transplantasyon öncesi değerlere ya da yaşa göre normal değerlere ulaştı. Çalışmamızda CD4⁺ T lenfosit yüzde ve sayıları ise hastaların büyük bir çoğunluğunda (yüzde: 17/20, sayı: 15/20) normal değerler altındadır. Saptanan düşük değerler donör tipi, kök hücre kaynağı ya da kimerizm sonuçlarından bağımsızdır. Elde edilen bu bulgular Qin ve ark.'nın yaptığı çalışmalar ile uyumludur.^[6,25] King ve arkadaşlarının^[7] yaptığı çalışmada ise CD4⁺ T lenfosit sayıları normal değerlere ulaşmış görünmektedir. Fakat toplam 52 hemoglobinopati hastasını kapsayan bu çalışmada yalnızca 9 talasemi majör hastası bulunmaktadır ve değerler tüm hastalar için ortanca olarak verilmiştir. CD4⁺ T hücrelerinin yeniden yapılanması timusa-bağımlı

moleküler yolaklara ihtiyaç duymaktadır.^[28] CD8⁺ T hücrelerin ekstra-timik yollarla yeniden yapılanabileceği ve transplantasyon sonrası kısa sürede düzelen sayıların timusa-bağımlı olmayan mekanizmalarla açıklanabileceği daha önce belirtilmiştir.^[29] Nitekim bizim çalışmamızda da tüm hastaların CD8⁺ T lenfositleri yüzde ve sayıları 12. ayda normal değerler içinde ya da üzerindedir. Buna bağlı olarak da hastaların CD4⁺/CD8⁺ oranları bir hasta hariç tümünde düşük olarak saptandı. Ek olarak anti-timosit globulin (ATG) kullanımının da hastalarda bağışıklığın yeni yapılandırmasını geciktireceğine, buna bağlı olarak da CD4⁺ T hücrelerin baskılanmasına yol açabileceğine inanılmaktadır.^[30] Hem CD4⁺ T lenfositlerin hem de CD4⁺/CD8⁺ hücreleri oranının düşüklüğü transplantasyon sonrası hastalarda özellikle viral ve *Pneumocystis jirovecii* enfeksiyonu riskini artırmaktadır.^[31] Çalışmada yer alan hastalarda ilk bir yılda kronik, ciddi bir enfeksiyon bulunmamasına rağmen olası enfeksiyon riskleri nedeniyle hastaların dikkatli takip edilmesi gerekmektedir.

CD19⁺ B lenfositlerinin transplantasyon sonrası ilk birkaç ayda yeniden yapılanmaya başladığı bilinmektedir ve ATG kullanımı B lenfosit proliferasyonunu etkilememektedir.^[30] Çalışmamızda sadece bir hastanın mutlak B lenfosit yüzdesi normal ancak sayısı düşük olarak saptandı. Hastaların hepsinde serum immünoglobulin düzeyleri de normal değerler içinde idi ve hiçbir hasta intravenöz immünoglobulin tedavisine ihtiyaç duymamakta idi. Bu sonuçlar da B hücre engraftmanının literatürle uyumlu oluştuğunu göstermektedir.

Doğal öldürücü hücrelerin transplantasyon sonrası yaklaşık bir ayda yeniden yapılandığı bilinmektedir.^[6,32] Rajasekar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada nakil sonrası 28. günde ortanca doğal öldürücü hücre sayısının altındaki değerlere sahip hastalarda, bu değerlerin doku reddi ve sağkalım değerleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir.^[25] Çalışmamızda transplantasyon sonrası birinci yılda doğal öldürücü hücreler yalnızca 2 hastada normal değerler altında saptandı. Bu durumun nedeni olarak tam o dönemde asemptomatik olarak geçirilmiş enfeksiyona bağlı bir baskılanma olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızın sınırlamaları ise transplantasyon öncesi lenfosit alt gruplarına ait değerlerin bulunmaması, 1. yıldan sonraki takiplerde düzenli aralıklarla immün hücre sayı ve yüzdelerinin saptanmamış olması ve düşük bulunan değerlerin ne zaman normal değerlere ulaştığının takibinin yapılmamasıdır. Bir diğer sınırlama da özellikle CD4⁺ T hücrelerin naif, hafıza, regülatör ya da yardımcı T hücre alt gruplarının belirlenmemiş olmasıdır.

Sonuç olarak hastalara uygulanan hematopoietik kök hücre transplantasyonu takip süresi de göz önüne alındığında başarılıdır. Hastaların hiçbirinin kan transfüzyonu ihtiyacı olmamıştır. Talasemi majör tanılı pediatrik hastalarda transplantasyon sonrası immün yeniden yapılanma bulgularının değerlendirildiği çalışma sayısı oldukça azdır. En önemli bulgu olarak, CD4⁺ T lenfositleri dışında diğer lenfoid seri hücrelerin normal değerlere ulaştığı gözlemlenmiştir. Beta-talasemi gibi malign olmayan ve öncesinde immün sistemde sorun olmayan bir hastalıkta bile nakil sonrası birinci yılda hala CD4⁺ T hücresi engraftmanının tam olmaması hasta takibi için önemli bir bulgudur. Belli aralıklarla CD4⁺ T hücre sayılarının düzenli takibinin yapılması ve buna göre profilaktik ilaçlarının kesilmesi planlanabilir. Daha geniş sayıda hasta gruplarını içeren ve başka hastalık grupları ile sonuçların karşılaştırıldığı çalışmaların yapılması da elde ettiğimiz sonuçların değerlendirilmesi açısından yararlı olacaktır.

Etik Kurul Onayı: Çalışma Altınbaş Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 18,09,2020 tarihli, 2020/17 numaralı raporu ile onaylanmıştır.

Hasta Onamı: Çalışma Helsinki Bildirgesi etik standartlarına uygun olarak hazırlanmış, hasta ve ebeveynlerden bilgilendirilmiş onam formları alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağlımsız.

Yazar Katkıları: Makalede yer alan retrospektif veriler BA ve BAA tarafından toplanmıştır. İstatistiksel hesaplamalar BA tarafından yapılmıştır. Makale metni BA tarafından yazılmış, klinik değerlendirmeler, sonuçların analizi ve eleştirel incelemeler BA ve BAA tarafından yapılmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarların herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Kaynaklar

1. Rund D, Rachmilewitz E. Beta-thalassemia. N Engl J Med 2005;353:1135-46. [Crossref]
2. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. Orphanet J Rare Dis 2010;5:11. [Crossref]
3. Ünal Ş. Clinical Findings and Diagnosis of Beta Thalassemia. Türkiye Klinikleri J Hem Onc - Special Topics 2010;3:14-7. <https://www.turkiyeklinikleri.com/article/en-beta-talasemi-klinik-ve-tanisi-57561.html>
4. Olivieri N, Weatherall DJ. Clinical aspects of β-thalassemia. In: Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Nagel RL, editors. Disorders of hemoglobin, genetics, pathophysiology, and clinical management. Cambridge, England: Cambridge University; 2001. p.277-341.
5. Gaziev J, Galimberti M, Lucarelli G, Polchi P, Giardini C, Angelucci E, et al. Bone marrow transplantation from alternative donors for thalassemia: HLA-phenotypically identical relative and HLA-nonidentical sibling or parent transplants. Bone Marrow Transpl 2000;25:815-21. [Crossref]
6. Qin F, Shi L, Li Q, Zhang Z, Liu L, Li J, et al. Immune recovery after in vivo T-cell depletion myeloablative conditioning hematopoietic stem cell transplantation in severe beta-thalassemia children. Eur J Haematol 2019;103:342-50. [Crossref]

7. King AA, Kamani N, Bunin N, Sahdev I, Brochstein J, Hayashi RJ, et al. Successful matched sibling donor marrow transplantation following reduced intensity conditioning in children with hemoglobinopathies. *Am J Hematol* 2015;90:1093–8. [Crossref]
8. Tezcan I, Berkel Aİ, Ersoy F, Sanal O. Sağlıklı Türk çocukları ve erişkinlerde turbidimetrik yöntemle bakılan serum immunoglobulin düzeyleri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Derg* 1996;649–56.
9. İkinciogulları A, Kendirli T, Doğu F, Eğin Y, Reisli I, Cin S, et al. Peripheral blood lymphocyte subsets in healthy Turkish children. *Turk J Pediatr* 2004;46:125–308. http://www.turkishjournalpediatrics.org/uploads/pdf_TJP_114.pdf
10. Angelucci E, Matthes-Martin S, Baronciani D, Bernaudin F, Bonanomi S, Cappellini MD, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major and sickle cell disease: indications and management recommendations from an international expert panel. *Haematologica* 2014;99:811–20. [Crossref]
11. Irvani M, Tavakoli E, Babaie MH, Ashouri A, Khatami F, Ghavamzadeh A. Comparison of peripheral blood stem cell transplant with bone marrow transplant in class 3 thalassemic patients. *Exp Clin Transplant* 2010;8:66–73. http://www.ectx.org/forms/ecrxcontentshow.php?year=2010&volume=8&issue=1&supplement=0&makale_no=0&page_number=66&content_type=FULL%20TEXT
12. Bernardo ME, Piras E, Vacca A, Giorgiani G, Zecca M, Bertaina A, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major: results of a reduced-toxicity conditioning regimen based on the use of treosulfan. *Blood* 2012;120:473–6. [Crossref]
13. Choudhary D, Sharma SK, Gupta N, Kharya G, Pavecha P, Handoo A, et al. Treosulfan-thiotepa-fludarabine-based conditioning regimen for allogeneic transplantation in patients with thalassemia major: a single-center experience from north India. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013;19:492–5. [Crossref]
14. Di Bartolomeo P, Santarone S, Di Bartolomeo E, Oliosio P, Bavaro P, Papalinetti G, et al. Long-term results of survival in patients with thalassemia major treated with bone marrow transplantation. *Am J Hematol* 2008;83:528–30. [Crossref]
15. Galambrun C, Pondarré C, Bertrand Y, Loundou A, Bordigoni P, Frange P, et al. French multicenter 22-year experience in stem cell transplantation for beta-thalassemia major: lessons and future directions. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013;19:62–8. [Crossref]
16. Ghavamzadeh A, Kasaiean A, Rostami T, Kiumarsi A. Comparable Outcomes of Allogeneic Peripheral Blood versus Bone Marrow Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Major Thalassemia: A Multivariate Long-Term Cohort Analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019;25:307–12. [Crossref]
17. Hussein AA, Al-Zaben A, Ghatasheh L, Natsheh A, Hammada T, Abdel-Rahman F, et al. Risk adopted allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using a reduced intensity regimen for children with thalassemia major. *Pediatr Blood Cancer* 2013;60:1345–9. [Crossref]
18. Lawson SE, Roberts IA, Amrolia P, Dokal I, Szydlo R, Darbyshire PJ. Bone marrow transplantation for b-thalassaemia major: the UK experience in two paediatric centres. *Br J Haematol* 2003;120:289–95. [Crossref]
19. Li C, Wu X, Feng X, He Y, Liu H, Pei F, et al. A novel conditioning regimen improves outcomes in β -thalassemia major patients using unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* 2012;120:3875–81. [Crossref]
20. Locatelli F, Kabbara N, Ruggeri A, Ghavamzadeh A, Roberts I, Li CK, et al. Outcome of patients with hemoglobinopathies given either cord blood or bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling. *Blood* 2013;122:1072–8. [Crossref]
21. Mathews V, George B, Viswabandya A, Abraham A, Ahmed R, Ganapule A, et al. Improved clinical outcomes of high risk β thalassemia major patients undergoing a HLA matched related allogeneic stem cell transplant with a treosulfan based conditioning regimen and peripheral blood stem cell grafts. *PLoS One* 2013;8:e61637. [Crossref]
22. Oevermann L, Schulte JH, Hundsdörfer P, Hakimeh D, Kogel F, Lang P, et al. HLA-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in pediatric patients with hemoglobinopathies: current practice and new approaches. *Bone Marrow Transplant* 2019;54:743–8. [Crossref]
23. Ullah K, Khan B, Raza S, Ahmed P, Satti TM, Butt T, et al. Bone marrow transplant cure for beta-thalassaemia major: initial experience from a developing country. *Ann Hematol* 2008;87:655–61. [Crossref]
24. Yesilipek MA, Ertem M, Cetin M, Öñiz H, Kansoy S, Tanyeli A, et al. HLA-matched family hematopoietic stem cell transplantation in children with beta thalassemia major: the experience of the Turkish Pediatric Bone Marrow Transplantation Group. *Pediatr Transplant* 2012;16:846–51. [Crossref]
25. Rajasekar R, Mathews V, Lakshmi KM, George B, Viswabandya A, Chandhy M, Srivastava A. Cellular immune reconstitution and its impact on clinical outcome in children with beta thalassemia major undergoing a matched related myeloablative allogeneic bone marrow transplant. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15(5):597–609. [Crossref]
26. Walters MC, Patience M, Leisenring W, Rogers ZR, Aquino VM, Buchanan GR, et al. Stable mixed hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation for sickle cell anemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001;7:665–73. [Crossref]
27. Krishnamurti L, Kharbanda S, Biernacki MA, Zhang W, Baker KS, Wagner JE, Wu CJ. Stable long-term donor engraftment following reduced-intensity hematopoietic cell transplantation for sickle cell disease *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14:1270–8. [Crossref]
28. Lynch S, Kelleher D, McManus R, O'Farrelly C. RAG1 and RAG2 expression in human intestinal epithelium: evidence of extrathymic T cell differentiation. *Eur J Immunol* 1995;25:1143–7. [Crossref]
29. Storek J, Witherspoon RP, Storb R. T cell reconstitution after bone marrow transplantation into adult patients does not resemble T cell development in early life. *Bone Marrow Transplant* 1995;16:413–425. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8535315/>
30. Servais S, Menten-Dedoyart C, Beguin Y, Seidel L, Gothot A, Daulne C, et al. Impact of pre-transplant anti-T cell globulin (ATG) on immune recovery after myeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *PLoS One* 2015;10:e0130026. [Crossref]
31. Olkinuora H, von Willebrand E, Kantele JM, Vainio O, Talvensaar K, Saarinen-Pihkala U, et al. The impact of early viral infections and graft-versus-host disease on immune reconstitution following paediatric stem cell transplantation. *Scand J Immunol* 2011;73:586–593. [Crossref]
32. Chiesa R, Gilmour K, Qasim W, Adams S, Worth AJ, Zhan H, et al. Omission of in vivo Tcelldepletion promotes rapid expansion of naïve CD4+ cordblood lymphocytes and restores adaptive immunity within 2 months after unrelated cord blood transplant. *Br J Haematol* 2012;156:656–666. [Crossref]